

Aus dem Radiologiezentrum der Philipps-Universität Marburg
Direktoren: Prof. Dr. rer. nat. et Dr. med. E.H. Gaul
und Prof. Dr. med. F. Heß

UNTERSUCHUNG PHYSIKALISCH-CHEMISCHER
GRUNDLAGEN DER KARZINOGESE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

KARIN HERRMANN
aus Haiger

Marburg/Lahn 1975

Druck: Görlich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

Aus dem Radiologiezentrum der Philipps-Universität Marburg
Direktoren: Prof. Dr. rer. nat. et Dr. med. E.H. Graul
und Prof. Dr. med. F. Heß

UNTERSUCHUNG PHYSIKALISCH-CHEMISCHER
GRUNDLAGEN DER KARZINOGENESE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

KARIN HERRMANN
aus Haiger

Marburg/Lahn 1975

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



**Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der Philipps-
Universität Marburg am 26.9.1975**

gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof.Dr.H.Oepen

Referent: Doz.Dr.F.A.Popp

Coreferent: Prof.Dr.E.Schaumlöffel

Inhaltsverzeichnis

A: Wechselwirkung zwischen Molekülen

- 1) Allgemein
- 2) WW-Kräfte zwischen Molekülen
- 3) Ihre Bedeutung in der Biologie

B: Chemische Bindung

- 1) Reaktionsmechanismus
Thermodynamik, Reaktionsgeschwindigkeit, Reaktionsordnung, Enzyme
- 2)a. Bindungsarten
Ionen-, kovalente Bindung
- b. Reaktionsarten
Additionsreaktion - Pullman'sche Hypothese
Substitutionsreaktion - Hoffmann
Eliminationsreaktionen

C: WW und Kanzerogene

- 1) langreichweitige Kräfte: Dipol-Dipol Transfer
- 2) kurzreichweitige Kräfte
 - a. Austauschtransfer
 - b. Charge-transfer
 - c. chemische Bindung
 - d. Resonanztransfer

Allgemeiner Teil

A: Die Wechselwirkung zwischen Molekülen

1) Allgemeine Betrachtungen

Man spricht allgemein von einer Wechselwirkung (WW) zwischen zwei Systemen, wenn sich jedes Teilchen in Abwesenheit des anderen anders verhält als in dessen Anwesenheit.

Betrachtet man beispielsweise zwei Elektronen im Abstand r voneinander, ohne die Wechselwirkung zwischen beiden zu berücksichtigen, so bleiben sie unbeeinflusst voneinander an den Stellen x_1 und x_2 .

Durch die Coulomb-WW wird jedoch eine Abstoßung zwischen beiden wirksam, sie werden sich mit der Zeit also voneinander entfernen. In der klassischen Vorstellung ist dieser Vorgang durch die Coulomb-WW in folgender Weise zu beschreiben:

Für jeden Abstand r zwischen den beiden Elektronen ist eine Kraft in Richtung der Verbindungsgeraden von beiden wirksam. Der Betrag dieser Kraft errechnet sich folgendermaßen:

$$K(r) = f \frac{e^2}{r^2}$$

$$f = \frac{10^{12}}{4\pi \cdot 8,854} \cdot \frac{\text{Nm}^2}{\text{A}^2 \text{ sec}^2} \quad e = 1,602 \cdot 10^{-19} \text{ A} \cdot \text{sec}$$

Versucht man die Elektronen in diesem Abstand zu fixieren, so ist diese Kraft aufzubringen. Läßt man sie los, werden sie schließlich eine Position einnehmen, in der die Kraft=0 ist, d.h. sie werden sich unendlich weit voneinander entfernen.

Durch die WW wird Energie übertragen, die sich in Form der kinetischen Energie der Elektronen zueinander äußert. Dabei muß nach dem Energieerhaltungs-

satz gelten:

$$\frac{1}{2} m v^2 = \int_r^{\infty} K(r) dr = f \cdot \frac{e^2}{r}$$

Umgekehrt muß diese Energie $f \cdot \frac{e^2}{r}$ dem System zugeführt werden, um die Elektronen in einen Abstand r voneinander zu bringen. Man bezeichnet $V(r) = f \cdot \frac{e^2}{r}$ als das WW-Potential für das System. Klassisch läßt sich die WW dieses Systems demnach durch die beteiligten WW-Partner und das WW-Potential oder die WW-Kraft in jeder möglichen Relativposition beschreiben.

Betrachtet man ein Proton und ein Elektron, werden die Verhältnisse schon komplizierter. Zwar lassen sich Potential und Kraft in der gleichen Weise (mit umgekehrtem Vorzeichen) beschreiben, aber um keine Kraft mehr aufeinander auszuüben, müssen sie ein System bilden, das mit den Eigenschaften der beiden Teilsysteme kaum noch Gemeinsamkeiten hat: So unterscheidet sich ein Wasserstoffatom sehr wesentlich von einem Proton und Elektron, die nicht miteinander wechselwirken. Die Coulombkraft wird in der Bohrschen Bahn durch die Zentrifugalkraft aufgehoben, die Energie $-f \frac{e^2}{r}$ wird als Bindungsenergie in Form von Strahlung frei. Umgekehrt muß dieser Energiebetrag aufgewandt werden, um die beiden WW-Partner wieder voneinander zu trennen. Das Elektron verliert im H-Atom seine individuellen Eigenschaften. Es kann nur noch diskrete Energiezustände annehmen und bildet eine verschmierte Ladungswolke um das Proton mit berechenbaren Aufenthaltswahrscheinlichkeiten. In beiden Fällen stellt sich ein Endzustand ein, der die Gesamtenergie des Systems zu einem Minimum werden läßt. Quantenmechanisch besteht die Aufgabe darin, unter den vorgegebenen Bedingungen diesen Zustand zu ermitteln.

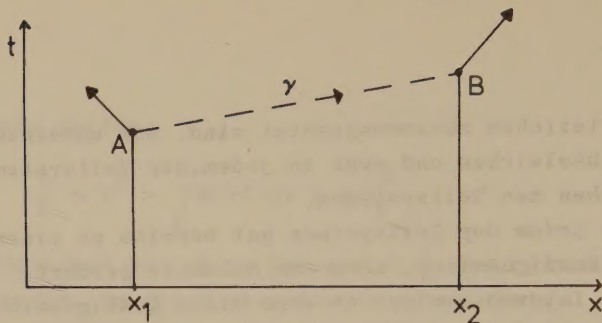
Betrachten wir 2 wechselwirkende Moleküle, so kann man sie auffassen als Systeme, die selbst aus vielen

Elementarteilchen zusammengesetzt sind, die untereinander wechselwirken und zwar in jedem der Teilsysteme und zwischen den Teilsystemen.

Die WW in jedem der Teilsysteme hat bereits zu einer stabilen Konfiguration, eben dem Molekül, geführt. Durch die intermolekulare WW wird diese Konfiguration instabil. Infolge von Umlagerungen ändern sich dabei die intermolekularen WW, die wiederum neue intramolekulare Veränderungen nach sich ziehen. Das stationäre Gleichgewicht, das sich schließlich einstellt, wird für das Gesamtsystem ein Energieminimum bedeuten. Da jedes der Teilsysteme bereits im isolierten Zustand das Energieminimum eingenommen hatte, wird es nach Berücksichtigung der WW für sich einen Zustand einnehmen, der einen höheren Energieinhalt hat. Soweit es noch sinnvoll ist, die beiden Teilsysteme zu separieren, kann deshalb davon ausgegangen werden, daß ihnen durch die WW vom WW-Partner die Energie zugeführt wurde, um den notwendig energiereichen Zustand nach der WW zu besetzen.

Nach der klassischen Vorstellung kommt die WW dadurch zustande, daß jedes Teilchen von einem Kraftfeld umgeben ist, dessen Kennzeichnung durch die Kraft auf ein Probeteilchen definierter Eigenschaft gegeben ist. Dieses Kraftfeld ist trägheitslos und überall im Raum zu jeder Zeit vorhanden.

In der modernen Auffassung kommt die Kraftwirkung durch ständige spontane Entstehung und Vernichtung, Emission und Absorption von Elementarteilchen im Raum zustande. Dazu betrachten wir noch einmal die Coulomb-WW zweier Elektronen. An der Stelle A emittiert ein Elektron ein Photon, das in B vom anderen Elektron absorbiert wird. Emission und Absorption laufen unter Gültigkeit des Energie- und Impulserhaltungssatzes ab. Dadurch erhält das emittierte Elektron einen Rückstoß, während das absorbierende Elektron Impuls in Flugrichtung aufnimmt.



Nach der Heisenberg'schen Unschärferelation können innerhalb kurzer Zeiten Δt , Energieabweichungen ΔE vom Sollwert auftreten, die grundsätzlich nicht mehr feststellbar sind, aber in der Natur erlaubte Vorgänge darstellen.

$$\Delta E \cdot \Delta t \approx \hbar = 6,6 \cdot 10^{-16} \text{ eV} \cdot \text{sec}$$

So kann beispielsweise ein System wechselwirkender Moleküle in einer Zeitspanne von $\sim 7 \cdot 10^{-17} \text{ sec}$ eine Energieunschärfe von 10 eV annehmen. Ein Molekül kann also innerhalb dieser Zeitspanne ein Elektron emittieren, welches nach dieser Zeit wieder absorbiert wird. Ebenso möglich ist auch der Prozeß, daß eines der Moleküle in dieser Zeitspanne spontan Photonen mit der Energie bis 10 eV abstrahlt.

Aus der Thermodynamik ist bekannt, daß die Ununterscheidbarkeit der Elementarteilchen zu Abweichungen von der Maxwell-Boltzmann-Statistik führt, die für das Verhalten von Stoffen bei der Abgabe und Aufnahme von Wärme entscheidende Änderungen gegenüber klassischen Vorhersagen bringt.

Ebenso ändern sich auch die WW zwischen den Elementarteilchen, wenn deren Ununterscheidbarkeit berücksichtigt wird.

2) WW-Kräfte, Potentiale und Energietransfer zwischen Molekülen

Zwei Moleküle können als Ladungsverteilungen angesehen werden, die einmal das WW-Potential V_1 und V_2 für sich haben und das Potential V_{12} untereinander.

Dabei läßt sich V jeweils durch die WW der Elektronen untereinander, die WW der Kerne untereinander und die WW der Kerne mit den Elektronen darstellen:

$$V = \frac{1}{2} \sum_i \sum_j f \frac{e^2}{r_{ij}} + \frac{1}{2} \sum_k \sum_l f \frac{Z_k \cdot Z_l}{R_{kl}} - \sum_i \sum_k f \frac{Z_k \cdot l}{S_{ik}}$$

r_{ij} : ist hierbei der Abstand zwischen i-tem und j-tem Elektron

R_{kl} : Abstand zwischen k-tem und l-tem Kern mit den Kernladungen $Z_k \cdot l$ und $Z_l \cdot l$

S_{ik} : Abstand zwischen i-tem Elektron und k-tem Kern

Bringt man 2 Moleküle in den Abstand r, ist dieser im allgemeinen viel größer als die intramolekularen Abstände. Damit wird auch V_{12} sehr viel kleiner als V_1 und V_2 , sodaß es noch sinnvoll ist, die beiden Moleküle als starre Gebilde zu betrachten.

Für die intermolekulare WW gilt dann folgendes:

$$V_{1/2} \approx f \frac{q_1 \cdot q_2}{r} - f \frac{q_1 \mu_2 \cdot \cos \vartheta_2}{r^2} - \frac{f \cdot q_2 \mu_1 \cdot \cos \vartheta_1}{r^2} -$$

$$f \frac{\mu_1 \cdot \mu_2}{r^3} (2 \cos \vartheta_1 \cos \vartheta_2 - \sin \vartheta_1 \sin \vartheta_2 \cos$$

$$(\varphi_1 - \varphi_2) + \dots)$$

q_1, q_2 Gesamtladungen der beiden Moleküle

μ_1, μ_2 Dipolmomente der beiden Moleküle

ϑ_1, ϑ_2 Winkel gegen die Verbindungsachse der beiden Ladungsschwerpunkte

φ_1, φ_2 Winkel zwischen den Dipolachsen und den Loten auf die Verbindungslinie im Ladungsschwerpunkt

Die beiden Moleküle wechselwirken über die einzelnen Multipolmomente ihrer Ladungsverteilungen. Da Moleküle im allgemeinen nach außen ungeladen erscheinen, bleibt für die WW nur der letzte Term maßgebend, falls die Moleküle Dipolmomente aufweisen. Durch thermische

Bewegung treten in der WW der Moleküle alle gegenseitigen Orientierungen mit verschiedenen Wahrscheinlichkeiten auf. Das führt zu einem mittleren Dipol-Dipol-Potential:

$$V_{1/2}^{D-D} = - \frac{2f \cdot \mu_1^2 \cdot \mu_2^2}{3k \cdot T \cdot r^6}$$

Im Mittel hat man also einen Abfall des WW-Potentials mit der 6. Potenz des Abstandes.

In vielen Fällen hat nur eines der Moleküle ein Dipolmoment; durch intermolekulare WW wird eine Änderung der Ladungsverteilung bewirkt; die Folge sind induzierte WW. Man erhält dann nach Einführung der Polarisierbarkeit α ($\mu_1 = \alpha E$, mit E als elektr. Feld am Ort des Moleküls ohne Dipolmoment, das vom Molekül mit dem Dipolmoment $\mu_2 = \mu$ erzeugt wird) das Potential:

$$V_{1/2} = - 2\alpha \frac{\mu^2}{r^6}$$

Man sollte nun erwarten, daß keine derartige WW mehr resultiert, wenn beide Moleküle keine Dipolmomente mehr besitzen, wie das beispielsweise bei He-Atomen der Fall ist. Aber auch hier beobachtet man WW, die darauf zurückzuführen sind, daß ein Atom kurzzeitig einen Anregungszustand besetzt und somit im anderen Atom ein Dipol induziert wird. Diese Kräfte beruhen auf der Verletzbarkeit des Energieerhaltungssatzes nach der Heisenbergschen Unschärferelation. Man nennt sie Dispersions-WW oder London-WW:

$$V_{1/2} \approx - f \frac{3}{2} \frac{I_1 \cdot I_2}{I_1 + I_2} \cdot \frac{\alpha_1 \cdot \alpha_2}{r^6} \quad I_1, I_2 \dots \text{ Ionisierungsenergien der beiden Moleküle}$$

Sie wächst mit dem Produkt der Polarisierbarkeit beider Moleküle und fällt mit der 6. Potenz des Abstandes ab.

Die bisher betrachteten Potentiale sind durchweg negativ und führen zu Anziehungskräften zwischen den

Molekülen. Gäbe es nur diese Kräfte, würden alle Moleküle ineinander eindringen bzw. sich beliebig nähern. Wenn r in die Größenordnung der intramolekularen Abstände kommt, werden die bisherigen Betrachtungen ungenügend.

Die Ursache ist darin zu sehen, daß die Individualität der beiden Moleküle mit abzunehmendem Abstand verlorengeht. Der Energieaustausch wird größer und somit die Beteiligung von Anregungszuständen. Dies führt zu einer zunehmenden Verteilung locker gebundener Elektronen auf beide Moleküle und im Extremfall schließlich zur chemischen Bindung.

Die Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Elektronen wird durch ihre Wellenfunktion beschrieben, die Ladung ist zu ersetzen durch $\int \psi^2(\vec{r}) d^3\vec{r}$, wenn $\psi(\vec{r})$ die Wellenfunktion in Abhängigkeit vom Ort $\vec{r}$ bedeutet; folglich ist sie als Maß für die Ladungsdichte zu betrachten.

Beispiel: Molekül 1 besteht aus N_1 Elektronen und Molekül 2 aus N_2

Ferner ist $\psi(\vec{r}_i)$ die Wellenfunktion des i -ten Elektrons.

Dann läßt sich die gesamte Wellenfunktion des Systems näherungsweise als Produkt aller beteiligten Elektronenwellenfunktionen darstellen.

$$\phi(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_{N_1+N_2}) = N^{1/2} (P_1 \prod_{i=1}^{N_1} \psi_i(\vec{r}_i)) (P_2 \prod_{k=N_1+1}^{N_1+N_2} \psi_j(\vec{r}_j))$$

N ist ein Normierungsfaktor

$P_{1/2}$ ein Operator, der die Nichtunterscheidbarkeit der Teilchen berücksichtigt, unter Vertauschung aller Ortsindizes i, j und damit alle möglichen Linearkombinationen bildet.

Am Beispiel von 2 Teilchen soll dies verdeutlicht werden.

$$\phi(\vec{r}_1, \vec{r}_2) \sim P_{12} \psi_1(\vec{r}_1) \psi_2(\vec{r}_2) - \psi_1(\vec{r}_1) \psi_2(\vec{r}_2) - \psi_1(\vec{r}_2) \psi_2(\vec{r}_1)$$

Die Unterscheidbarkeit der Teilchen kommt darin zum Ausdruck, daß neben der Funktion $\psi_1(\vec{r}_1) \cdot \psi_2(\vec{r}_2)$ eine zweite Kombination $\psi_1(\vec{r}_2) \psi_2(\vec{r}_1)$, in der die beiden Elektronen vertauscht sind, mit gleicher Wahrscheinlichkeit auftritt.

Schon daraus erkennt man, daß die einzelnen Moleküle ihre Individualität mehr oder weniger stark aufgeben, da alle Elektronen durch die Ununterscheidbarkeit bei den Molekülen zugeordnet sind.

Haben sich die intermolekularen Abstände so stark verringert, daß sich die Wellenfunktionen ψ_i und ψ_j überlappen, so errechnet sich die WW, indem das Potential V zwischen den beiden Systemen folgendermaßen bestimmt wird. Als Beispiel behandeln wir 2 H-Atome: Klassisch wird die WW beschrieben (s.o) nach folgender Beziehung

$$V_{1/2} = f \cdot \frac{e^2}{r} + f \cdot \frac{e^2}{r_{1/2}} - f \left(\frac{e^2}{s_{1/2}} + \frac{e^2}{s_{21}} \right) \quad *$$

Wegen der Nichtlokalisierbarkeit der Teilchen muß der Ausdruck gemittelt werden.

$$\bar{V}_{1/2} = \int_{V_1} \int_{V_2} \varnothing(\vec{r}_1, \vec{r}_2) V_{1/2} \varnothing(\vec{r}_1, \vec{r}_2) dV_1 dV_2$$

Ersetzt man $\varnothing(\vec{r}_1, \vec{r}_2)$ durch $*$, erhält man folgende unterschiedliche Integrale C und A:

$$C = \int_{V_1} \int_{V_2} \psi_1(\vec{r}_1) \psi_2(\vec{r}_2) V_{1/2} \psi_1(\vec{r}_1) \psi_2(\vec{r}_2) dV_1 dV_2$$

$$A = \int_{V_1} \int_{V_2} \psi_1(\vec{r}_1) \psi_2(\vec{r}_2) V_{1/2} \psi_1(\vec{r}_2) \psi_2(\vec{r}_1) dV_1 dV_2$$

C, das Coulombintegral beschreibt die klassische Coulomb-WW

A, das Austauschintegral kommt infolge der Nichtunterscheidbarkeit der Teilchen zustande;

d.h. das Elektron des einen Atoms kann mit einer von der Überlappung der beiden Systeme abhängigen Wahr-

scheinlichkeit auch dem anderen Atom zugeordnet werden und dadurch zur Bildung der beiden Systeme beitragen.

C ist i.a. positiv, verursacht also Abstoßung, während A negativ ist, also Anziehung der Systeme bewirkt. Verknüpft werden beide folgendermaßen:

$$\bar{V}_{1/2} = \frac{C(r) \pm A(r)}{1 \pm S(r)}$$

S ist ein Maß für die Überlappung der Systeme und ist abhängig von r. Das + Zeichen gilt für antiparallelen Spin der beiden Elektronen, das - Zeichen für parallele Spineinstellung.

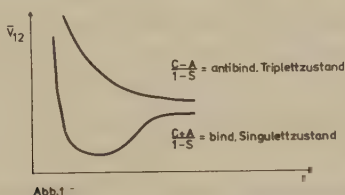


Abb.1

Für den bindenden Singulett-Zustand (=antiparalleler Spin) entsteht eine Potentialmulde, die die Bindung zum H_2 -Molekül bewirkt. Für $r \rightarrow \infty$ verschwindet $A(r)$ und $S(r)$, sodaß nur $C(r)$ bleibt.

Wir stellen also fest, daß das WW-Potential zwischen Molekülen für sehr geringe Abstände (einige Å) zunächst repulsiv ist. Dies wird durch den Coulombterm C bewirkt, der die Abstoßung der Kerne und Elektronen untereinander beschreibt. Durch die Ununterscheidbarkeit der Teilchen resultiert, je nach Orientierung der Spins - antiparallel gerichtete magnetische Momente heben sich auf - eine zusätzliche attraktive WW, die zum Potentialminimum bei bestimmtem Abstand und Orientierung der beiden Moleküle führen kann. Mit zunehmendem Abstand wird das Potential dann attraktiv. Dies ist durch Dipol-Dipol WW erklärbar, wobei sowohl permanente, als auch induzierte Dipole beteiligt sein

können.

Mit jeder WW ist ein Energieaustausch verbunden. Man unterscheidet den langreichweitigen Dipol-Dipol Transfer und den kurzreichweitigen Austausch (oder Überlappungstransfer).

Es ist vorstellbar, daß jeder Anregungszustand des Moleküls durch Einstrahlung energiereicher Quanten erzeugt wird. Die Änderung des Emissionsspektrums ist abhängig von den Konzentrationen der beteiligten wechselwirkenden Moleküle, d.h. es können Energieübertragungen zwischen den Molekülen stattfinden.

Die sogenannte Transferrate stellt ein Maß für die Zahl der pro Zeiteinheit übertragenen Quanten dar. Sie beträgt für den langreichweitigen Dipol-Dipol Transfer bei fixer Position von Akzeptor- und Donatormolekül nach Foerster:

$$n_{DA} \sim \frac{K}{n^4 \tau_D^0} \frac{1}{r^6} \int_0^\infty f_D(\omega) \epsilon_A(\omega) \frac{d\omega}{\omega^4}$$

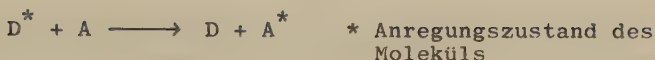
K ist ein Orientierungsfaktor, n der Brechungsindex des Mediums, τ_D^0 die Zerfallszeit des Donators, r der intermolekulare Abstand, ω die Frequenz, f_D die Oszillatorstärke des Donators und ϵ_A den Extinktionskoeffizienten des Akzeptors.

Hieraus erkennt man, daß neben der r^6 -Abhängigkeit der Dipol-Dipol WW die Überlappung von Emissions- und Absorptionsspektrum des Donators und Akzeptors von entscheidender Bedeutung für den Energietransfer ist. Die Abstände für die Gültigkeit dieser Formel liegen gewöhnlich zwischen 50 und 100 Å.

Für kleinere Abstände gewinnt der Overlap-Transfer Bedeutung. Hierfür stellte Dexter folgende Beziehung auf:

$$n_{DA} \sim K \cdot e^{-r/L} \int_0^\infty f_D(\omega) \epsilon_A(\omega) d\omega$$

Die Abstände liegen in einer Größenordnung von 2-5 Å. Er kann durch folgende Gleichung beschrieben werden:



Für diese geringen Abstände können auch freie Anregungszustände (Ionenzustände) in der WW bedeutend werden; diese sind mit dem Austausch von Ladung verbunden. Dabei bilden sich charge-transfer Komplexe, die den Austausch von Elektronen bewirken.

Der Grundzustand kann wie folgt dargestellt werden:

$$G = aDA + bD^+A^- \quad \text{wobei } a \ll b$$

Mulliken zeigte, daß sich in diesem System besonders leicht der Zustand $T = bAB - aA^+B^-$ anregen läßt, so daß im Spektrum außer den Absorptionsbanden der beiden Moleküle eine neue charge-transfer Bande auftritt.

Für noch geringere Abstände läßt sich die Individualität der wechselwirkenden Moleküle nicht mehr aufrechterhalten. Es kommt möglicherweise zur Komplexbildung oder chemischen Bindung. Außerdem müssen wir noch feststellen, daß auch intramolekularer Energietransfer möglich ist.

3) Bedeutung der WW für biologische Systeme

In der Zelle liegen die mittleren Abstände zwischen gleichartigen Zellbestandteilen, wenn sie homogen verteilt sind, ungefähr in der Größenordnung zwischen 10 und 100 Å. Die dazugehörigen verschiedenen WW-Energien haben etwa folgende Werte:

	10 Å	100 Å
Dispersions-WW	10^{-4} eV	10^{-10} eV
Dipol-Dipol WW	10^{-3} eV	10^{-6} eV
Ion-Dipol WW	10^{-2} eV	10^{-4} eV
Ion-Ion WW	1 eV	10^{-1} eV

Durch die langreichweitigen WW können nun bestimmte gegenseitige Orientierungen der Makromoleküle mit ihren polaren Gruppen, und dementsprechend Abweichun-

gen von der rein statistischen homogenen Verteilung, bewirkt werden. Als Folge davon kommen jetzt ebenfalls die kurzreichweitigen WW in Betracht.

So werden beispielsweise die Proteine durch intermolekulare WW in der Tertiär- und Sekundärstruktur festgelegt.

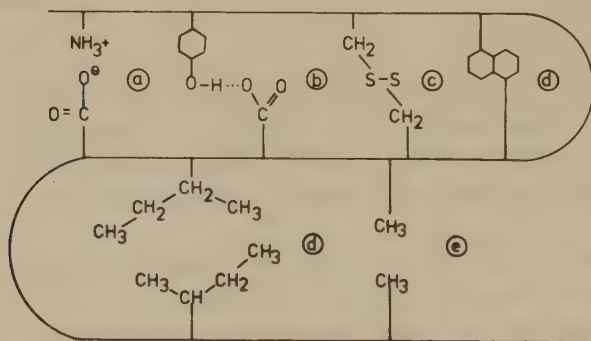


Abb.2

- a) Ion-Ion-WW
- b) H-Brücke
- c) Disulfid-Brücke
- d), e) van der Waals-WW

Die H-Brücke ist eine kurzreichweitige WW, die entsteht, wenn sich ein Elektronenpaar eines dauernd polarisierten Atoms (O,N,F), dem Proton eines H-Atoms nähert. Ihre Energie beträgt $\sim 1/10$ einer kovalenten Bindung. Für die $-O^{\ominus} - H^{\oplus} \dots O^{\ominus}$ Konfiguration erhält man für einen O-O Abstand von $2,5 \text{ \AA}$ eine WW-Energie von $\sim 0,7 \text{ eV}$, die bis auf $0,2 \text{ eV}$ für einen Abstand von $2,7 \text{ \AA}$ abfällt.

Schließlich soll am Beispiel der DNA die Bedeutung der intermolekularen WW-Potentiale gezeigt werden. Zur Beschreibung ist die Änderung der freien Enthalpie ΔF geeignet, die bei Erreichen der Endkonfiguration

eintritt. Sie wird durch folgende Anteile bewirkt:

ΔF_{ES} : elektrostatische Energie, die von den statischen Ladungsverteilungen bewirkt wird.

Ein Näherungsverfahren zur Bestimmung ist die sog. Dipol-Approximation von De Voe und Tinoco, welche Dipol-Dipol- und Dipol-induzierte Dipol-WW berücksichtigt. Dies Verfahren ist nach Bradley nicht mehr ausreichend für die geringen Abstände zwischen den Basenpaaren. Es wird deshalb die Monopol-Approximation nach A. und B. Pullman bevorzugt, die Monopol-Monopol und Monopol-induzierte Dipol-WW betrachtet, und die verschiedenen Ladungsdichten der Elektronen an den einzelnen Atomen berücksichtigt.

ΔF_L : Dispersionswechselwirkungsenergie

ΔH_{HB} : Wechselwirkungsenergie infolge der H-Brücke

ΔH_S : WW-Energie infolge sterischer Effekte (sehr gering: 10^{-2} eV/Basenpaar)

- ΔS : Änderung der freien Enthalpie infolge der Änderung der Entropie des Systems. Sie erfolgt dadurch, daß die Basen beim Einbau in die DNA Rotationsfreiheitsgrade einbüßen. Es kann angenommen werden, daß für die 6 Bindungen pro Nukleotid, die freie Drehungen zulassen, je drei Freiheitsgrade der Rotation eingebüßt werden.

$$(-\Delta S)_{\max} \approx 300 \cdot 6 \cdot k \cdot \ln 3 \approx 0,2 \text{ eV}$$

Die Berechnungen von Pullman für die WW benachbarter Basen (In-Plane-Interactions) und übereinander angeordneter Basenpaare (Stacking-Interactions) lassen folgende Schlüsse zu:

- 1.) Das G-C Basenpaar ist stabiler als das A-T Basenpaar
- 2.) Benachbarte GC oder CG Basenpaare sind in der Nucleotidsequenz am stabilsten, während AT-TA-Basensequenzen am wenigsten stabil sind.

3.) Während für In-Plane-Interactions die elektrostatischen WW am wichtigsten sind, scheinen für die Stacking-Interactions Dispersions-WW die größte Rolle zu spielen. Beide liegen jedoch in der gleichen Größenordnung von 0,2-1eV.

Allerdings muß noch ein Korrekturfaktor eingeführt werden, der die Wechselwirkung der DNA mit umgebenen Molekülen in der Zelle berücksichtigt. Dabei zeigt sich, daß die London-WW ungefähr gleichbleibt, während die elektrostatische WW ΔF_{ES} um den Faktor 2-5 kleiner werden lassen. Deshalb steigt die Bedeutung der Dispersions-WW für die realen Verhältnisse in der Zelle stark an.

Die betrachteten WW führen somit zur Strukturierung der Biomoleküle in der Zelle und zur intramolekularen Stabilisierung. Schließlich muß noch der intermolekulare Energie- bzw. Informationsaustausch betrachtet werden. Je geringer die Abstände zwischen den Molekülen werden, umso stärker wird einmal der Energieaustausch und die Beteiligung angeregter Zustände und zum anderen die Strukturspezifität. Diese spielt wiederum eine wesentliche Rolle in der Antigen-Antikörperreaktion. Die Kopplung zwischen beiden ist auf kurzreichweitige WW zurückzuführen. Die resultierende Komplexbildung ist im Gegensatz zur chemischen Bindung durch stärkere WW von außen reversibel.

Antigene sind i.a. kleine Moleküle ($MC \approx 15\,000$), während Antikörper größenordnungsgemäß etwa 10x größer sind. Die Änderung der freien Enthalpie bei Antigen-Antikörperreaktionen liegt, wie bei der Stabilisierung der DNA-Helix, in der Größenordnung von 0,2-1eV. Es dürften folglich die gleichen kurzreichweitigen Kräfte bedeutend sein.

Wie bereits dargestellt, ist jede WW mit einem Energietransfer verbunden. Im Resonanzfall von Donator und Akzeptor, auf Nukleinsäuren übertragen, könnte durch "stacking interactions" die Anregung einer Base

in Richtung der Helixachse über weitere Basenpaare sich fortpflanzen.

Analog dazu beobachtet man diese Prozesse relativ häufig in Kristallen, da die gleichartigen Moleküle die Resonanzbedingung zur vollständigen Weiterleitung der Energie erfüllen können.

In kristallinen Polycyclica sieht man, vorwiegend durch Dispersions-WW, eine Verschiebung und Aufspaltung der Energieniveaus gegenüber den isolierten Molekülen. Dayvidov unterschied dabei 2 Grenzfälle der WW, die von der Relativorientierung der Moleküle abhängen.

Im ersten Grenzfall, einer starken Kopplung bei intraplanarer WW, wird die Anregungsenergie so schnell abgegeben, daß keine stabile Kernkonfiguration erreicht wird. In diesem Fall wird die Energie über den Excitonen-Transfer (Frenkel) weitergeleitet, der als Wanderung eines Elektron-Loch Paares verstanden werden kann. Im 2. Grenzfall, einer besonders schwachen Kopplung bei interplanarer WW, nimmt jedes Molekül eine stabilere Kernkonfiguration im Anregungszustand an, bevor es emittiert. Dabei verliert es einen Teil der Energie durch Schwingungsquanten an das Kristallgitter, sodaß schließlich das emittierte Photon kein neues Molekül mehr in Resonanz anregen kann. Es wird entweder als Strahlung oder strahlungslos in Kaskadeprozessen weiter als Schwingungsenergie abgegeben.

Um die Bedeutung der chemischen Bindung bei der Karzinogenese verstehen zu können, sind zuerst einige allgemeine Erklärungen erforderlich.

B: Chemische Bindung

- 1) Für eine chemische Reaktion sind zwei Größen ausschlaggebend. Die Enthalpieänderung (ΔH) und Entropieänderung (ΔS), verknüpft werden beide durch folgendes Gesetz: $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, wobei $\Delta G \rightarrow$ freie Energie. Eine Reaktion verläuft dann freiwillig, wenn $\Delta G < 0$ und exotherm, wenn ΔH negativ, d.h. Wärme frei wird. Das Molekül versucht, den Zustand minimaler Energie zu erreichen. Auf der anderen Seite kann auch eine endotherme Reaktion freiwillig ablaufen, nämlich dann, wenn ΔS positiv $\rightarrow$ die Unordnung zunimmt.

Dieser Zustand wird ebenfalls, als Folge der ungeordneten Wärmebewegung, angestrebt.

ΔG stellt also ein Maß für die Triebkraft einer Reaktion dar. Bei einem negativen ΔG kann der Ablauf exergonisch sein, vorausgesetzt, die Reaktionsgeschwindigkeit ist genügend groß. Diese Bedingung ist neben ΔG ein weiteres Kriterium für den Eintritt einer Reaktion.

Die Geschwindigkeit, gemessen durch die zeitliche Abnahme der Konzentration eines Reaktanten bzw. durch die Zunahme der Konzentration des Produktes $\frac{dx}{dt}$ bzw. $\frac{dy}{dt}$ hängt von den Konzentrationen der Reaktionsteilnehmer und der Temperatur ab. Folgende Zeitgesetze können wir für jede Reaktion aufstellen: (berücksichtigt wird nur die Hinreaktion)



$$- \frac{d(AB)}{dt} = k_1 (AB)$$

Reaktion
1.Ordnung



$$- \frac{dA}{dt} = - \frac{dB}{dt} = k_2 (A) \times (B)$$

Reaktion
2.Ordnung

Hierbei bedeuten k_1 und k_2 die Geschwindigkeitskonstanten. Ordnung der Reaktion sind die als Faktoren auftretenden Konzentrationen. Tritt kein Konzentrationsfaktor auf

z.B. Reaktion = k, ist die Ordnung = 0.

Die Geschwindigkeit dieser Reaktionen 0.Ordnung sind unabhängig von der Konzentration der Reaktionspartner.

Als Beispiel für eine Reaktion 2.Ordnung:



wobei $-\frac{d(A)}{dt} = -\frac{d(B)}{dt} = k(A)(B)$ sein soll.

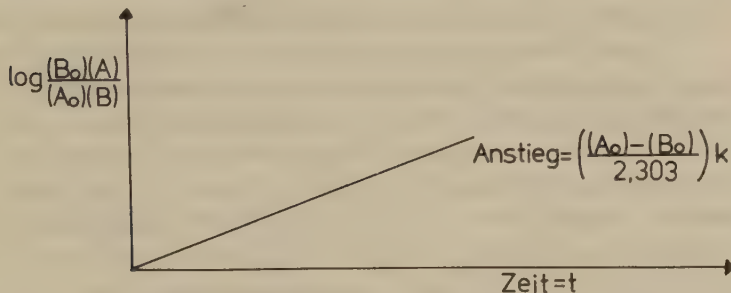
Integration ergibt: $\frac{2,303}{(A_0)-(B_0)} \log \frac{(B_0)(A)}{(A_0)(B)} = k \cdot t$

A_0 und B_0 sind Anfangskonzentrationen von A und B zur Zeit $t=0$ und A und B Konzentrationen zur Zeit t.

(A_0) wird ersetzt durch a und (A) durch $a-x$.

Es resultiert folgende Gleichung:

$$\frac{2,303}{a-b} \log \frac{b(a-x)}{a(b-x)} = k \cdot t$$

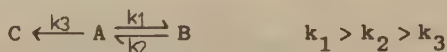


Dies ist der Fall, wenn beide Ausgangskonzentrationen verschieden sind. Bei gleichen Ausgangskonzentrationen von A und B vereinfacht sich die Gleichung, sodaß der Anstieg der Geraden = k wird.

Neben der Reaktionsordnung ist auch der Mechanismus d.h.molekulare Ablauf eine wichtige Größe.

So nennt man beispielsweise eine als Folge des Zusammenstoßes zweier Teilchen auftretende Reaktion bimo-

lekular, während unimolekulare (meist Zerfallsreaktionen) keiner Molekülzusammenstöße bedürfen. Reaktionsordnung und -molekularität sind sehr oft identisch, außer wenn verschiedene Reaktionsschritte beteiligt sind. Dann besitzt jeder Schritt eine bestimmte Molekularität, die von der Gesamtordnung verschieden sein kann. Außerdem bestimmt der langsamste Schritt die Geschwindigkeit der Gesamtreaktion. Der Fall liegt anders, wenn verschiedene Konkurrenzreaktionen möglich sind:



C sei das thermodynamisch stabilere Produkt. Es bildet sich zuerst vorwiegend B, da k_1 die schnellste Reaktion ist. Dies Ergebnis ist also kinetisch gesteuert. Nach längerer Zeit wird dem Gleichgewicht A laufend entzogen, weil sich irreversibel das stabilere Produkt C bilden kann. Man erhält hauptsächlich C; die Reaktion ist also thermodynamisch gesteuert.

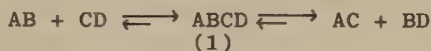
Durch Temperaturänderung kann ein Reaktionsschritt oft begünstigt werden, da die Reaktionsgeschwindigkeit sehr stark hiervon abhängig ist. Mit zunehmender Temperatur wächst der Anteil der Teilchen, deren Energie im Mittel zunimmt, stark an. Dadurch können sich mehr pro Zeiteinheit umsetzen, die Reaktionsgeschwindigkeit wird also größer. Sie wird damit durch die Höhe der Aktivierungsenergie bestimmt. Diese Temperaturabhängigkeit kommt auch in der Geschwindigkeitskonstanten zum Ausdruck. Nach Arrhenius gilt:

$$k = A \cdot e^{-E_a/R \cdot T}$$

Die Aktivierungsenergie E_a kann festgestellt werden, indem man $\ln k$ als Funktion von $1/T$ aufträgt. Die Neigung der erhaltenen Geraden ist $-E_a/R$. Der Faktor A kann als Produkt aus Stoßzahl und sterischem Faktor aufgefaßt

werden; letzterer besagt, daß die Teilchen mit der richtigen gegenseitigen Orientierung aufeinandertreffen müssen!

Viele organische Reaktionen verlaufen in einem einzigen Schritt, ohne daß irgendwelche Zwischenstoffe auftreten.



Zustand (1) nennt man Übergangskomplex. Die alte Bindung ist noch nicht vollständig getrennt, und die neue noch nicht vollständig ausgebildet. Er stellt einen energiereicheren Zustand dar als Reaktanten und Produkte, besteht nur sehr kurze Zeit und heißt daher aktivierter Komplex.

Nach der "Transition State Theory" von Eyring besteht ein echtes Gleichgewicht zwischen den reagierenden Teilchen und dem aktivierten Komplex. Der fundamentale Prozeß ist der Zusammenbruch des aktivierten Komplexes auf dem Maximum der Energie. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist gleich der Konzentration dieses Komplexes multipliziert mit der Geschwindigkeit, mit der er dissoziiert. Dies ist dann der Fall, wenn seine Schwingungsenergie gleich wird mit der Bindungs-Potential-Energie:

$$1. \quad E_{\text{Schwing}} = h \cdot \gamma$$

$$2. \quad E_{\text{pot}} = k_B \cdot T \quad \text{und} \quad k_B = \frac{R}{A}$$

Die Frequenz des dissoziierenden Komplexes zu den Produkten ist:

$$\gamma = \frac{k_B \cdot T}{h}$$

$$\text{mit } K^\ddagger = \frac{[ABCD]}{[AB][CD]} \quad \text{und} \quad v = \frac{d}{dt}[ABCD] = \frac{d}{dt} K^\ddagger [AB][CD]$$

$$v = K^\ddagger [ABCD] \gamma$$

oder $v = k [ABCD]$ wenn für k gilt:

$$3. \quad k = \frac{k_B \cdot T}{h} \cdot K^\ddagger = \gamma \cdot K^\ddagger$$

wenn $K^\ddagger$ bekannt ist, kann die Geschwindigkeitskonstante bestimmt werden. Gleichung 3 gibt nicht den wirklichen Sachverhalt wieder, da eine Dissoziation in die Anfangsprodukte, mit anderen Worten die Rückreaktion nicht betrachtet wird. Gehen wir von der thermodynamischen Beziehung aus, so ist der freie Energiewechsel einer chemischen Reaktion definiert als:

$$\Delta G = - RT \ln K$$

für den aktivierten Prozeß lautet er:

$$4. \Delta G^\ddagger = - RT \ln K^\ddagger$$

oder nach dem Gibb'schen Gesetz:

$$5. \Delta G^\ddagger = \Delta H^{\circ\ddagger} - T \Delta S^{\circ\ddagger}$$

kombiniert mit 3 und 4:

$$6. \quad k = \frac{k_B \cdot T}{h} e^{-\Delta G^{\circ\ddagger}/RT}$$

Einsetzen von 5 in 6:

$$k = \frac{k_B \cdot T}{h} e^{\Delta S^{\circ\ddagger}/R} \cdot e^{-\Delta H^{\circ\ddagger}/RT}$$

Der Exponentialausdruck erscheint jetzt als Produkt zweier Exponentialfunktionen. Der erste ist das Wahrscheinlichkeits- und Richtungsglied ($e^{\Delta S^{\circ\ddagger}/R}$), während der zweite die Aktivierungsenergie enthält ($e^{-\Delta H^{\circ\ddagger}/RT}$).

Wir erkennen also, daß die Geschwindigkeit einer chemischen Reaktion im gesamten durch ihre freie Aktivierungsenergie $\Delta G^\ddagger$ bestimmt wird. Je höher die freie Energie des aktivierten Komplexes ist, desto langsamer verläuft die Reaktion. Alle Faktoren, welche die Differenz der freien Energie zwischen aktiviertem Kom-

plex und den Reaktanten verringern, bewirken eine Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit.

Energiediagramm für eine nicht catalysierte exotherme Reaktion:

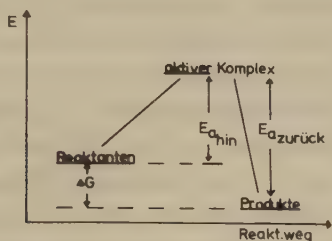


Abb. 3

Wenn k und E_a experimentell bestimmt sind, können wir die Entropie der Aktivierung bestimmen. Diese quantitative Beziehung ist von großem Interesse bei Erforschung der Reaktionsmechanismen.

Zu den Faktoren, die eine Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit durch Erniedrigung der Energiebarriere bewirken, gehören vor allem die Katalysatoren bzw. Enzyme.

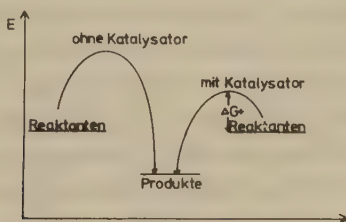


Abb. 4

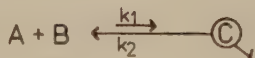
Ihre Besonderheit liegt darin, daß sie am Ende der Reaktion wieder unverändert vorliegen. Sie bilden zwar mit den Ausgangsstoffen eine reaktionsfähige Zwischenverbindung, werden aber im Laufe der Reaktion wieder freigesetzt, sodaß nur der Mechanismus der Reaktion verändert wird, insofern, als dessen freie Aktivierungsenergie geringer ist.

Die Gleichgewichtskonstante K kann jedoch nicht verändert werden, sondern es wird nur die raschere Ein-

stellung des Gleichgewichtszustandes bewirkt. Die Geschwindigkeit der Hin- und Rückreaktion wird in gleichem Maße gefördert.

Dies wird deutlich an folgendem Beispiel aus der anorganischen Chemie. Ein Gemisch aus H_2 und O_2 ist bei Zimmertemperatur metastabil, d.h. obwohl nicht im Gleichgewichtszustand, werden diese Stoffe nicht verändert, da die Aktivierungsenergie zu hoch ist. Erst durch Zufügen eines Katalysators, in diesem Falle Pt, läuft die Reaktion sofort ab. Dies geschieht folgendermaßen: An der Oberfläche des Pt werden H_2 -Moleküle absorbiert, die H-H Bindung wird dabei stark gelockert, sodaß beim Stoß mit einem O_2 -Molekül die Reaktion augenblicklich abläuft $2H_2 + O_2 \rightarrow 2H_2O$.

Von großer Wichtigkeit sind die enzymatisch beeinflussten Reaktionen im Stoffwechsel lebender Organismen. Als Unterschied zum stationären System wird hierbei das Gleichgewicht einer chemischen Reaktion niemals erreicht, da die entstehenden Produkte durch Abtransport oder eine weitere Reaktion laufend entfernt werden zum Zweck der Energiegewinnung. Charakterisiert wird dieser Zustand durch das sogenannte Fließgleichgewicht (steady state), das von der jeweiligen Stoffwechsellage und der Enzymaktivität abhängt. So ist es beispielsweise möglich, endergonische Reaktionen ablaufen zu lassen, indem das Produkt ständig entfernt und somit die Einstellung eines Gleichgewichtes vermieden wird.



So gehören viele Enzyme zu den Proteinen. Sie bestehen aus Proteinanteil und prostetischer Gruppe (Coenzym). Prostetische Gruppen werden im allgemeinen von Enzymen benötigt, die an oxydierenden bzw. reduzierenden Reaktionen beteiligt sind ($NADP^+$), während hydrolytische Reaktionen katalysierende meist ohne sie auskommen.

Coenzyme werden auch als Transportmetabolite bezeichnet. Sie stellen Bindeglieder dar für die Gruppenübertragungen (sei es H_2 oder organische Gruppen), vermitteln also zwischen verschiedenen Enzymen.

Ein Enzym besitzt außerdem die Fähigkeit, von verschiedenen möglichen Reaktionen eine auszuwählen und nur diese zu katalysieren.

Man nennt dies Wirkungsspezifität. Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Substratspezifität, d.h. es wird nur ein spezifisches Substrat umgesetzt; sehr ausgeprägt ist die optischen Antipoden gegenüber, meist wird nur das eine der beiden Isomeren umgesetzt.

Verwandte Stoffe werden zwar oft angelagert, es tritt jedoch keine Reaktion ein (kompetitive Hemmung).

Es kann auch folgender Zustand eintreten, daß mehrere Enzyme um das gleiche Substrat konkurrieren. Durch Änderung der Aktivität der einzelnen Enzyme oder durch Änderungen der Substratkonzentration, womit ein Enzym begünstigt wird, können somit Stoffumsetzungen in eine ganz bestimmte Richtung gelenkt werden.

Für die spezifische katalytische Wirksamkeit ist das aktive Zentrum verantwortlich, das aus bestimmten Teilen der Polypeptidkette durch eine besondere Faltung entsteht. Dieser Teil der Peptidkette geht eine Bindung zum Substrat ein. Es lassen sich eine große Zahl von Nebenvaleanzbindungen feststellen. Offenbar ist also die Oberfläche eines Fermentes derart gestaltet, daß sich nur ganz bestimmte Moleküle anlagern und gebunden werden können. E.Fischer prägte hierfür einen treffenden Ausdruck. Er sprach vom Schlüssel-Schloß-Mechanismus der Katalyse.

Als Bedingung für die Enzymaktivität spielt auch der pH-Wert eine Rolle (pH-Optimum für ein Enzym). Es ist anzunehmen, daß diese Eigenschaft mit dem Dissoziationszustand der "aktiven Gruppe" zusammenhängt.

Theorie von Michaelis:

Aus Enzym und Substrat bildet sich ein Komplex, der dann in die Produkte zerfällt:



Definition der Michaelis-Konstanten:

$$K_m = \frac{([E_t] - [ES])[S]}{[ES]}$$

$[E_t]$ = Gesamtkonzentration des Enzyms

$[E_t] - [ES]$ ist deshalb die freie Enzymkonzentration

$[S]$ die freie Substratkonzentration

$[ES]$ Konzentration des Enzym-Substrat-Komplexes

1) Bildungsgeschwindigkeit

$$\frac{d}{dt}[ES] = k_{+1} \{ [E_t] - [ES] \} \{ [S] \}$$

2) Zerfallsgeschwindigkeit

$$\frac{d}{dt}[ES] = k_{-1}[ES] + k_{+2}[ES]$$

Gleichsetzen bedeutet Fließgleichgewicht und führt zu

$$\boxed{k_m = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}}} \rightarrow [ES] = \frac{[E_t][S]}{k_m + [S]}$$

da $v = k_{+2} [ES]$ Geschwindigkeit der enzym.Reaktion

$v_{\max} = k_{+2} [E_t]$ im Zustand der Substratabsättigung

$$\frac{1}{v} = \frac{k_m}{v_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\max}}$$

Bedeutung von k_m :

- 1.) k_m ist eine von der Enzymkonzentration unabhängige Größe
- 2.) k_m ermöglicht die Berechnung der Substratkonzentration, die zum Erreichen von $v_{\max}$ notwendig ist.

3.) Sie ermöglicht wertvolle Rückschlüsse auf Enzym-Substrat-Wechselwirkungsmechanismen - beispielsweise nichtkompetitive Hemmung - $k_m = \text{const.}$

kompetitive Hemmung - k_m wird größer

unkompetitive Hemmung - k_m wird kleiner

$$\frac{k_m}{v_{\max}} = \text{const.}$$

Hemmung durch Substratüberschuß - Abweichung von der Geradenform (Glockenkurve)

Allosterische Hemmung - verschiedene Möglichkeiten

4.) k_m ist ein Maß für die Affinität des Enzyms zum Substrat:

Erlaubt Rückschlüsse auf

Substratspezifität, Gruppenspezifität, optische Spezifität, Abhängigkeit von äußeren Bedingungen wie Temperatur und pH-Wert.

Die chemische Bindung

2) Atom- oder Elektronenpaarbindung: Nach der Vorstellung von Lewis vermag ein Elektronenpaar, welches 2 Atomen gemeinsam angehört, eine Bindung zwischen diesen Atomen zu bewerkstelligen = kovalente Bindung. Mit zunehmender Annäherung zweier Atome beginnen sich die Aufenthaltsräume der Elektronen zu überlagern d.h. die Wahrscheinlichkeit, daß sich Elektronen des 1. Kernes auch in der Nähe des 2. aufhalten, wird immer größer. Die Ladungsdichte=Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Elektronen zwischen den Kernen ist besonders groß. Die erhöhte Ladungsdichte bewirkt durch rein elektrostatische Kräfte den Zusammenhalt des Moleküls. Der Zustand entspricht einem Minimum an Energie. Um die Kerne weiter zu nähern, müßte die kinetische Energie der Elektronen erhöht werden; umgekehrt müßte aber zur Trennung der Kerne potentielle Energie aufgewendet werden. Die mathematische Berechnung wird durch die interelektronischen

WW, sowie die nicht mehr vorhandene Zentralsymmetrie der Atomkerne stark erschwert. Es werden 2 Näherungsverfahren benutzt:

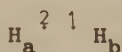
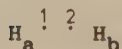
2.1. MO-Verfahren nach Hund und Mulliken

Alle Elektronen eines Moleküls werden zu einem einheitlichen Elektronensystem gehörig betrachtet. Bei der einfachsten Näherung werden die MO's aus atomaren Elektronenzuständen aufgebaut. Durch lineare Kombination (LCAO), also Addition oder Subtraktion zweier AO's, deren ψ - Funktion bekannt sind, kann man 2 MO's bilden.

Eine der beiden Linearkombinationen zeigt zwischen den Kernen eine erhöhte Ladungsdichte, ist insgesamt energieärmer und wirkt bindend, während die Ladungsdichte des 2.MO's zwischen beiden Kernen verringert ist (=antibindendes MO). Die LCAO Näherung ist nur dann sinnvoll, wenn man annimmt, daß der Zustand eines Elektrons dem im AO gleicht.

2.2. Die VB-Methode (Heitler und London)

Es wird die Individualität der AO's im Molekül postuliert. Die bindende Wirkung kommt - ebenso wie bei der MO'Methode - durch die Ununterscheidbarkeit der Elektronen zustande. Sie sind einer Austauschwechselwirkung zwischen beiden Atomen unterworfen. Die mathematische Durchführung ergibt eine Energiesenkung (bind.Wirkung). Der Zustand entspricht einer Kombination der verschiedenen Grenzstrukturen, die extreme Elektronenverteilungen wiedergeben:



Diese Lewis-Formel ist lediglich ein Hilfsmittel zum besseren Verständnis der Elektronenverteilung.

Die Stärke der Atombindung wird durch die Überlappung der AO's bestimmt. Je größer diese ist, umso stärker sind die bindenden Elektronen zwischen beiden Kernen konzentriert.

Durch die LCAO-Näherung erhält man den Ausdruck:

$$\psi = N(C_1\psi_1 + C_2\psi_2)$$

N... Normierungsfaktor. Für c_1 und c_2 muß die Energie minimal werden. Als Lösung errechnet sich $c_1 = c_2$ und $c_1 = -c_2$.

Dies führt zu folgenden Kombinationen:

$$\psi_+ = Nc_1(\psi_1 + \psi_2)$$

$$\psi_- = Nc_1(\psi_1 - \psi_2)$$

Für eine der beiden Funktionen ist die Ladungsdichte im Überlappingsgebiet erhöht, die Energie wird für einen bestimmten Abstand minimal. Dies stellt das bindende MO dar. Bei der 2. Kombination ist ψ für alle Kernabstände energiereicher als die entsprechenden AO's, es wird antibindendes AO genannt. Im Grundzustand besetzt das Elektron das bindende MO, während das antibindende einen angeregten Zustand darstellt. Tritt nun eine Bindung zwischen 2 Atomen mit verschiedener Elektronegativität ein, so ist die Ladungsdichteverteilung der MO nicht mehr symmetrisch, es wird somit einem AO des elektronegativeren Atoms ähnlicher. c_1 und c_2 , welche den Anteil der beiden AO am MO ausdrücken, können im Extremfall $c_1 = 0$ und $c_2 = 1$ werden. Beide Elektronen sind jetzt als zu einem Atom gehörig zu betrachten. Es haben sich also Ionen A^+ und B^- gebildet. Es existieren alle Übergänge zwischen Atombindung $c_1 = c_2$ und Ionenbindung. Zur Ausbildung einer Doppelbindung ist die Überlappung von je 2 einfach besetzten AO nötig. Dazu betrachten wir die $\text{>C} = \text{C}<$ Bindung. Die 3 gleichwertigen Bindungen des C-Atoms werden durch 3 sp^2 -Hybrid Orbitals beschrieben. Durch Kombination von 2 sp^2 -Orbitals erhält man eine rotationssymmetrisch zur Kernverbindungsachse C-C-Bindung = σ -Bindung. Die beiden anderen sp^2 Hybride gehen in die C-H Bindung ein. Es verbleibt bei jedem

C-Atom noch ein p_y -Elektron. Durch Überlappung dieser beiden kommt eine π -Bindung zustande. Die Ladung befindet sich ober- und unterhalb der Kernverbindungsachse, das MO besitzt eine Knotenebene. Die Doppelbindung besteht also aus einer σ - und π -Bindung. Durch lineare Kombination der Wellenfunktionen kann man zu einem gleichwertigen Modell der Doppelbindung gelangen:

$$\psi_1 = \frac{1}{\sqrt{2}}(\psi_\sigma + \psi_\pi) \quad \psi_2 = \frac{1}{\sqrt{2}}(\psi_\sigma - \psi_\pi)$$

Sie werden auch als π -Bindung bezeichnet.

Im Benzolring würde man ebenfalls die Ausbildung von π -Bindungen erwarten, tatsächlich tritt jedoch eine völlige Delokalisierung der $6p$ -Elektronen ein, die jetzt über das gesamte Ringsystem verschmiert sind. Ihre kinetische Energie ist infolgedessen wesentlich geringer; das System also besonders energiearm. Die Delokalisationsenergie oder Resonanzenergie beträgt ~ 36 kcal/Mol für das Benzol.

Das Charakteristikum der Ionenbindung ist der vollständige Übergang von Elektronen. So ist zur Bildung positiver Ionen die Ionisierungsenergie erforderlich, während bei Bildung einfach negativ geladener Ionen infolge der Elektronenaffinität Energie frei wird. Mehrfach negativ geladene Ionen erfordern wieder Energie. Entgegengesetzt geladene Ionen können infolge der Coulomb'schen Anziehungskräfte zu Molekülen bzw. einem Gitter zusammentreten (Gitterenergie wird frei). Für die Ionenbindung ist charakteristisch, daß die Ionen auch im gebundenen Zustand als solche erhalten bleiben. Zu dem Potential der Anziehungskräfte von der Größe $-e^2/r$.

e... Ladung der Ionen; r... Abstand ihrer Mittelpunkte kommt infolge der endlichen Ausdehnung der Ionen bei kleinen Abständen noch ein Abstoßungspotential (der Elektronenhüllen) hinzu. Damit erhält das Gesamtpotential der Ionen die Form

$$K = -\frac{e^2}{r} + B \cdot e^{-r/\rho}$$

B... Maß für die Abstoßungskräfte

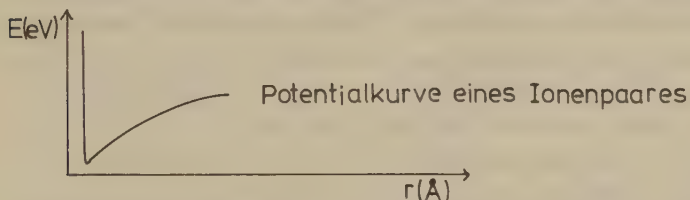
ρ ... Faktor, der durch die Elektronendichte bestimmt wird.

Da das Coulomb'sche Potential mit $1/r$ also sehr langsam abfällt, wird sein Grenzwert erst bei sehr großen Abständen erreicht.

Kraft zwischen den Ionen ist:

$$F = - \frac{dU}{dr} = - \frac{e^2}{r^2} + \frac{Be^{-r/\rho}}{\rho}$$

Das Minimum der Potentialkurve $\frac{dU}{dr} = 0$ gibt den Gleichgewichtsabstand an, in welchem sich die Anziehungs- und Abstoßungskräfte gerade das Gleichgewicht halten.



Auch bei einer kovalenten Bindung zwischen 2 gleichen Atomen können Ionenstrukturen z.B. der Form H^+H^- und H^-H^+ auftreten, d.h. daß die kovalente Bindung partiellen Ionencharakter besitzen kann. Eine solche Überlagerung, von Pauling als Ionenkovalenzresonanz bezeichnet, führt stets zu einer Stabilisierung der Mischform durch einen Energiegewinn, die Ionenkovalenz-Resonanzenergie Δ .

b) Reaktionsarten

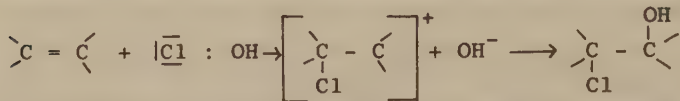
Als Typen organischer Reaktionen kennen wir:

1) Additions(-oder Anlagerungs)reaktion

Hierbei werden Atome oder Atomgruppen bevorzugt an Doppel- oder Dreifachbindungen angelagert. Entsprechend der Art des angelagerten Teilchens unterscheidet man zwischen elektrophiler und nucleophiler Addition:

a) elektrophile Additionen sind die meisten Anlagerungen an unpolare Mehrfachbindungen. Das elektrophil-

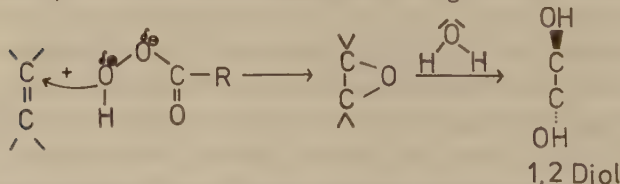
le Teilchen wird im einfachsten Fall direkt durch ein Elektronenpaar der Doppelbindung gebunden.



Die Zwischenverbindung addiert sofort ein weiteres nucleophiles (OH^-) (Elektronen zur Verfügung stellendes Teilchen).

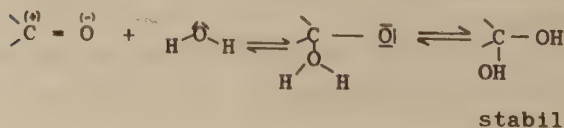
Die Addition wird erleichtert, sobald die C-Atome der Doppelbindung elektronenliefernde Substituenten tragen. Bei zunehmender Methyl-Substitution wächst somit die Additions geschwindigkeit, sie sinkt hingegen bei elektronenanziehenden Substituenten.

Große Säurestärke der Additions partner begünstigt ebenfalls die Anlagerung. Eine Erklärung bietet die Lewis-Säure-Basetheorie, wonach starke Säuren auch starke Elektronenakzeptoren darstellen. Durch Persäuren kann ebenfalls eine Oxidation der Doppelbindung erreicht werden. Man erhält ein Epoxid, welches sehr reaktionsfähig ist.



Durch säure- oder basekatalysierte Hydrolyse (nucleophile Reaktion) können sie in 1,2 Diole übergehen.

- b) Nucleophile Addition. Bei Anlagerung an $\text{C}=\text{O}$; $\text{C}=\text{N}$ und $\text{C}\equiv\text{N}$ Bindungen wird gewöhnlich zuerst ein nucleophiles Teilchen angelagert. Dieses kann infolge der hohen EN des O-Atoms an das positiv polarisierte C-Atom addiert werden.



c) der Vollständigkeit halber sollte noch die radikalische Addition erwähnt werden. Radikale sind fast nur beteiligt bei Reaktionen in unpolaren Lösungsmitteln, bei Anwesenheit von Sonnenlicht oder anderer energiereicher Strahlung.



Für die Pullman'sche K- und L-Region Hypothese spielen ebenfalls die Additionsreaktion eine Rolle. Sie gehen dabei von der Kohlenstofflokalisierungsenergie (C.L.E.) aus. Dieser Begriff wurde von Wheland geprägt und besagt, welche Beträge an Energie nötig sind, um 2π Elektronen an einem α - oder β C-Atom zu lokalisieren.



α -



β -Naphthalen

Da weniger Energie für die Lokalisation in α -Position benötigt wird, erklärt dies auch die bevorzugte elektrophile Addition am α -C des Naphthalen.

Ein fundamentales Theorem von Wheland besagt nun, daß in benzolähnlichen C-H Stoffen die Lokalisierungsenergie an irgendeinem C-Atom unabhängig ist von der Art der angenommenen Lokalisation. Dies besagt also, daß derselbe Energiebetrag nötig ist, um entweder 2,1 oder kein Elektron an einem C-Atom zu lokalisieren. In solch einem Molekül sollte dasselbe C-Atom bei allen Reaktionen am reaktionsfähigsten sein.

Als weiteren Begriff müssen wir die Bindungslokalisierungsenergie (B.L.E.) einführen. Sie bezeichnet den Energiebetrag, der aufgewendet werden muß, um 1 Paar π -Elektronen zwischen 2 benachbarten C-Atomen zu lokalisieren.



α - β Bindung



β - β Bindung

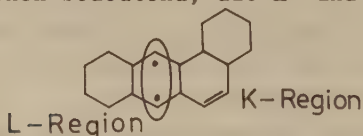
Während die Paralokalisierungsenergie (P.L.E.) benötigt wird, um 2 Elektronen gleichzeitig in para-Stellung zu bringen.



Da diese einfachen Lokalisierungsenergien besonders beim Vergleich verschiedener Moleküle ungenügend sind, wird zur besseren Näherung eine Kombination mit der CLE des C-Atoms, welches die Bindung formt, benutzt. Beispiel: Bei Paraadditionen PLE und CLE_{min}

Bedeutung ist folgende: Additionen sind meist 2 Stufen Reaktionen. Der erste Schritt, der Angriff, ist bestimmt durch CLE_{min} . Die Stabilität des Zwischenkomplexes oder der 2. Angriff, der die Reaktion vervollständigt, ist in größerem Maße von der BLE oder PLE abhängig.

Für das chemische Verhalten eines Stoffes sind 2 Regionen bedeutend, die K- und L-Region:



K-Region wird von der Bindung gebildet, die die kleinste BLE besitzt oder $(BLE + CLE_{min})$.

L-Region: von C-Atomen gebildet, welche die kleinste PLE und gleichzeitig die kleinste CLE besitzen $(PLE + CLE_{min})$.

Es konnte nachgewiesen werden (1), daß die meisten in vitro Reaktionen an der L-Region stattfinden, während die K-Region nur an spezifischeren Reaktionen teilnimmt. Die Notwendigkeit einer inaktiven L-Region liegt nach Pullman darin, daß das Molekül keine fundamentalen Umwandlungen erfährt, bis die K-Region die spezifische Reaktion festgelegt hat. Nachteil ist, daß keine Anregungszustände in Betracht gezogen wurden.

2) Substitution- oder Ersatzreaktionen

Hierbei wird ein Atom oder eine Atomgruppe durch ein anderes Atom oder andere Atomgruppen ersetzt. Es tritt also im Gegensatz zu den Additionen sowohl eine Trennung wie ein Neubildung einer Bindung ein. Zu unterscheiden sind ebenfalls radikalische-, elektrophile- und nucleophile Substitution:

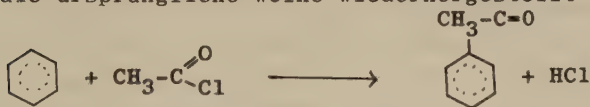
a) radikalische Substitution

Als substituierende Teilchen wirken Radikale, welche die anzugreifende Bindung homolytisch spalten. Es kommt sehr oft eine Kettenreaktion zustande.



b) elektrophile Substitution (S_E -Reaktion)

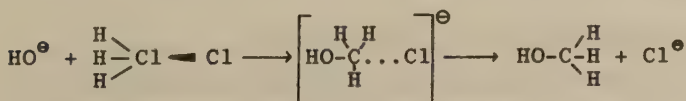
Diese Substitution hat für aromatische Ringe große Bedeutung. Die elektronensuchenden Teilchen werden zunächst durch das π -System gebunden, die Zwischenverbindung spaltet nachher ein Proton ab, so daß die ursprüngliche Wolke wiederhergestellt wird.



c) nucleophile Substitution (S_N -Reaktion)

Diese Reaktionen verlaufen umso rascher, je höher die Nucleophilie des substituierenden Teilchens ist und je geringer die der verdrängten Atomgruppe. Voraussetzung ist also eine polarisierte Bindung.

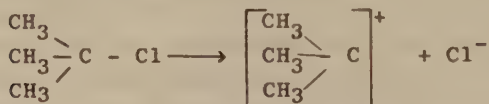
Die meisten nucleophilen Substitutionen haben folgenden Ablauf, wobei eine Trennung und die Bildung der Bindungen ungefähr gleichzeitig eintritt:



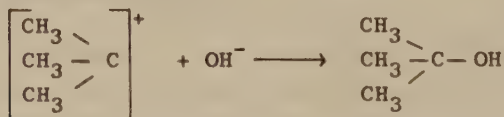
Um den Übergangszustand zu erreichen, müssen die Teilchen zusammenstoßen. Die Anzahl der Zusammenstöße und damit die Reaktionsgeschwindigkeit hängt also von der Konzentration beider Reaktionspartner ab. Diese Substitutionen bezeichnet man deshalb auch als S_N-2 Reaktionen.

Außerdem ist noch folgender Fall denkbar: Die polarierte Bindung löst sich zunächst vollständig, dies kann durch Zusammenstoß mit irgendeinem beliebigen Molekül geschehen, und erst im 2. Schritt bildet sich die neue Bindung aus. Die Geschwindigkeit wird deshalb bei diesem Ablauf nur durch die Konzentration einer einzigen Molekülart, an der die Substitution stattfindet, bestimmt. Diese Substitutionen nennt man S_N-1 Reaktionen.

1. Bildung des Carboniumions:



2. Reaktion des Carboniumions mit dem nucleophilen Teilchen



F. Hoffmann untersuchte, ob die Pullman'sche Hypothese auch noch Gültigkeit besitzt, wenn ein verfeinertes Verfahren, das LCAO-MO-SCF Verfahren benutzt wird (2).

Die chemische Reaktionsfähigkeiten wurden mit Hilfe der Übergangszustände bestimmt.

$$k/k_0 = \exp(-\Delta E_{\text{rel}}^*/KT)$$

$$\Delta E_{\text{rel}}^* = \Delta E^* - \Delta E_0^*$$

k_0 ... Reaktionskonstante des Benzols

ΔE^* ... Aktivierungsenergie des Kohlenwasserstoffes

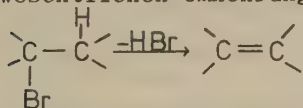
ΔE_0^* ... Aktivierungsenergie des Benzols

- A) Als erstes betrachtete er das Modell der lokalisierten Bindung (Wheland Komplex), wie schon Pullman es getan hatte.
- B) Modelle der delokalisierten Bindung
- a) Reaktionspartner, dessen Eigenschaften durch Wechselwirkungsintegrale beschrieben werden, befinden sich in Molekülebene. Untersuchung der Aktivierungsenergie wie unter 1.
 - b) Reaktionspartner befinden sich nicht in der Molekülebene.
 - c) An Stelle der Aktivierungsenergien werden statische Indizes betrachtet. (Superdelokalisierbarkeit, freie Valenz, Bindungsordnung, Ladungsdichte).

Als Ergebnis wurde festgestellt, daß zwar die Pullman'sche K- und L-Region Hypothese weiterhin Gültigkeit besitzt, es aber nicht möglich ist, die Art der krebserregenden Reaktion als Additions- oder Substitutionsreaktion festzulegen. Weiterhin konnten krebserregende substituierte Aromaten ohne K-Region z.B. 6-Methyl-Anthanthren aufgezeigt werden. Hoffmann schloß daraus, daß die Reaktionsfähigkeit einer Bindung und nicht deren Anordnung entscheidend ist. Die außerdem gemachte Voraussetzungen, daß der Aromat durch seinen Grundzustand beschreibbar ist und die Reaktion an der berechneten reaktionsfähigsten Bindung stattfinden soll, ist besonders unter in vivo Bedingungen nicht recht einzusehen.

3) Eliminationsreaktionen

Abtrennung von Atomen oder Atomgruppen. Sie sind im wesentlichen Umkehrungen der Additionsreaktionen.



Sehr häufig findet man die Abspaltung von Atomen benachbarter C-Atome; die eine Gruppe ist gewöhnlich elektrophil (z.B. Proton) und die andere nucle-

ophil.

4) Umlagerungen

Sind Verschiebungen von Atomen oder Atomgruppen innerhalb eines Moleküls. Am häufigsten treten 1,2 Verschiebungen auf, d.h. von einem Atom zum Nachbaratom.

Fall 1: ungelagerte Gruppe wandert als Anion, das Nachbaratom muß eine Elektronenlücke besitzen, um die neue Bindung einzugehen.

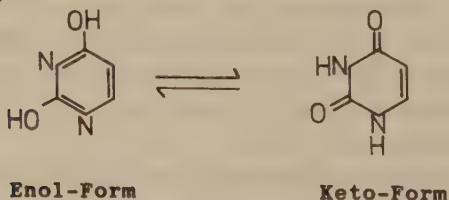
Aniotrope Umlagerung

Fall 2: Im Fall der Verschiebung eines Protons oder kationischen Gruppe (prototrope bzw. kationotrope Umlagerung.)

Man findet außerdem, daß Verbindungen mit trans-Stellung der wandernden Gruppe leichter umgelagert werden, als cis-ständige.

Als Beispiel für eine Umlagerung kann man die Tautomerie wählen. Mit diesem Begriff wird die Gleichgewichtseinstellung von 2 verschiedenen Strukturisomeren bezeichnet.

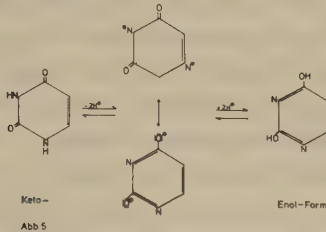
Keto-EnolTautomerie: Am häufigsten unterscheiden sich die Tautomere durch die Stellung eines Protons (Prototropie), wie das Beispiel der Pyrimidinbase Uracil zeigt:



Die Einstellung des Gleichgewichts wird durch Spuren von Säure oder Base katalysiert und ist folgendermaßen zu verstehen.

Die Abspaltung eines Protons führt zu einem mesomeriestabilisierten Anion, dessen negative Ladung delokalisiert ist. Umgekehrt kann die Addition eines Protons

sowohl am Sauerstoff zum Enol, wie auch am C zur Keto-
verbindung erfolgen.



Es liegt also bei der Keto-Enol Tautomerie ein Gleichgewicht zwischen 2 Säuren und ihrem gemeinsamen Anion vor. Die Lage des Gleichgewichts hängt vor allem vom Lösungsmittel, sowie von der Temperatur und der Konzentration ab. Der Enolgehalt ist in hydrophoben, wenig polaren Lösungsmitteln größer als in Wasser oder Alkoholen. Im allgemeinen ist die Ketoform wesentlich stabiler. Der Ersatz einer C=O, einer C-C-Bindung durch eine C-O und C=C Bindung bedeutet eine Enthalpiezunahme von rund 20 kcal/Mol. Auch ist diese Form nur in der Lage, die N-Glykosidbindung zwischen Base und Ribose, welche die Bausteine der DNA darstellen, zu bewirken.

C: Wir wollen nun untersuchen, welche Wechselwirkungen eine Rolle bei der Karzinogenese spielen könnten. Die erste Frage stellt sich nach der Natur des Biorezeptors. Es wurden sowohl Bindungen von Karzinogenen an Zellproteine (Abell und Heidelberger 3), als auch an DNA (Brookes und Lawley 4) gefunden. Da jede Krebszelle wiederum zu krebsig entarteten Tochterzellen führt (5), ist es am einfachsten zu verstehen, wenn das genetische Material der Zelle, die DNA verändert wird. So zeigten Colburn und Boutwell in einer quantitativen Studie die Beziehung zwischen Tumor-Produktion und Ausmaß der Reaktion mit DNA, RNA oder Proteinen. Sie verglichen Tumor-Initiation und Bindung an Zellbestandteile von β -Propirolacton und einer Anzahl ver-

wandter alkylierender Substanzen (6) . Als Ergebnis dieser Arbeit konnten sie zeigen, daß DNA-Bindung, jedoch nicht RNA- oder Proteinbindung mit Tumor-Induktion korreliert, welches ebenfalls von Dingman und Sporn (7) als Resultat ihrer Arbeit mit verschiedenen Aminoazofarbstoffen und von Brookes und Lawley (8) für aromatische Kohlenwasserstoffe gefunden wurde.

Von entscheidender Bedeutung sind die WW bzw. Bindungen, die hierbei eine Rolle spielen. Verschiedene Autoren haben die nichtkovalenten Kräfte zwischen Karzinogenen und Nukleinsäuren oder Proteinen beschrieben (9,10,11,12). Wir betrachten daher die mögliche Bedeutung der verschiedenen WW der Reihe nach.

1) langreichweitige physikalische WW

Für den langreichweitigen Energie-Transfer hat die von Foerster angegebene Beziehung (s.o.) Bedeutung. Hieraus ersieht man, wie schon früher dargestellt wurde, daß außer der r^6 -Abhängigkeit die Überlappung der Emissions- und Absorptionsspektren von Donator und Akzeptor entscheidend für Energietransfer sind. Die Abstände liegen i.a. zwischen 50 und 100 Å. Diese Kräfte sind jedoch zu schwach, als daß sie in die Größenordnung der durch thermische Bewegung statistischen WW einer Energie $k \cdot T \sim 10^{-2}$ eV kommen. Daraus erkennt man, daß nur die Ion-Dipol und die Ion-Ion WW für langreichweitige Kräfte zwischen den Molekülen in Betracht kommen. Diese reichen aber aus, um die polaren Gruppen gegenseitig zu orientieren. Eine Erhöhung der Temperatur müßte auch diese WW durch die größere thermische Bewegung zerstören, falls sie allein für eine Bindung verantwortlich wäre. Daß Purine wirkungsvolle Quencher der Fluoreszenz polycyclischer Kohlenwasserstoffe sind, wurde schon 1946 durch Weil-Malherbe nachgewiesen. Weitere Untersuchungen von Boyland und Green 1962 zeigten, daß dieser Quench-Effekt unabhängig von der Temperatur ist. Wären langreichweitige physikalische WW beteiligt, so müßte zumindest eine

Abnahme der Quenchung zu erwarten sein. Auf der anderen Seite erscheint es sehr wahrscheinlich, daß diese Kräfte insbesondere bei Aufnahme der Karzinogene in die Zelle beteiligt sind. So kann eine Annäherung der Moleküle an die Zellmembran stattfinden, die dann erst die stärkeren kurzreichweitigen Kräfte wirksam werden läßt. Dafür spricht auch eine Korrelation zwischen Aufnahmefähigkeit in die Zelle und Kanzerogenität (Daudel, 12a).

Ein weiteres Argument gegen die Bedeutung der langreichweitigen WW ist die mangelnde Struktur-Wirkungsspezifität, d.h. eine Änderung der Struktur braucht keine wesentlich andersartige Wirkung hervorzurufen. Als Beispiel dient 1,2-BP, das im Gegensatz zum 3,4-BP, welches eines der stärksten Karzinogene darstellt, völlig inaktiv ist.

Auf der anderen Seite gibt es eine Reihe von Beobachtungen, in denen mechanische Kräfte, die auf langreichweitigen WW beruhen, eine enge Korrelation zur Krebsentstehung aufweisen. So ist beispielsweise ein Hautkrebs bei einem Volksstamm bekannt, der darauf beruht, daß erhitzte Steine zwecks Wärmeentwicklung auf dem Körper getragen werden. Es können also langreichweitige Kräfte nicht gänzlich ausgeschlossen werden, obwohl sie recht unwahrscheinlich sind.

2) kurzreichweitige Kräfte

a) Überlappungstransfer (H-Brücke und s.w.)

Für wesentlich kleinere Abstände gewinnt der Overlap-Transfer Bedeutung ($2-5\text{\AA}$), für den Dexter eine Beziehung aufstellte.

Da der Basenabstand in der DNA nur $\sim 3\text{\AA}$ beträgt, könnte dieser WW entscheidende Bedeutung zukommen.

Ihr Betrag liegt ebenfalls in der Größenordnung von 0,2-eV. Zwischen Makromolekülen in Lösung sind i.a. langreichweitige Kräfte, während für die WW zwischen kleinen Molekülen und Makromolekülen kurzreichweitige Kräfte von Bedeutung sind, die sehr strukturspezifisch

sein können. Dies zeigt das Beispiel der Enzym- Substratbildung. Hierbei spielen die "Short-Range-Interactions" eine Rolle, die zusammengesetzt sind aus elektrostatischer WW-Energie, Dispersions WW Energie und H-Brücken. Die räumliche Orientierung sowohl des Enzyms als auch des Substrates macht es möglich, daß nur eine bestimmte Konstellation sich bildet, d.h. in den meisten Fällen nur ein spezifisches Substrat sich anlagern kann.

Boyland und Green (13) untersuchten die Löslichkeit polycyclischer Kohlenwasserstoffe durch Purine. Die Löslichkeit der Purine zeigte eine Parallelität mit der Anzahl der N-methylgruppen.

Diese Gruppen haben die Eigenschaft, Elektronen zum Ringsystem beizusteuern, d.h.sie erhöhen die Elektrodendichte im Ring.

Eine Erklärung hierfür wäre, daß durch die zusätzliche negative Ladung eine vermehrte Polarisierung stattfindet, sodaß eine größere Affinität möglich ist. Weiterhin stellten sie fest, daß die Pyrimidine (Thymin, Cytosin, Uracil) geringe Löslichkeit in wässriger DNA-Lösung im Vergleich zu den Purinen aufweisen.

Da die Pyrimidine 2N-Atome im aromatischen Ring beinhalten, gehören sie auf Grund der größeren Elektronegativität der N-Atome zu den π -elektronenarmen Systemen. Das Verhalten der Pyrimidine ist schon erkenntlich aus der Tatsache, daß sie nur einen heterocyclischen Ring besitzen und infolge ihrer sterischen Anordnung keine so starke WW eingehen können, wie beispielsweise die Purine.

Quench-Effekt und Löslichkeit sind ebenfalls sehr stark korreliert. Strukturelle Veränderung in den Purinen, die die Löslichkeit verringern, schaffen gleichzeitig auch einen Verlust des Quench-Effektes. Es müssen jedoch kurzreichweitige WW wie charge-transfer ausgeschlossen werden, da keine neue Absorptionsbande im Spektrum nachgewiesen werden konnte.

Kristallspektroskopische Daten von De Santis et al. (14) und Befunde von Ts'o und Mitarbeitern (15) zeigten aufgrund des Absorptions- und Fluoreszenzspektrums den säulenartigen Aufbau dieses Komplexes und die alternierende Anordnung der Purine und Kohlenwasserstoffe übereinander. Pullman machte Dipol- ind. Dipol und London-Dispersionskräfte für diese Komplexe verantwortlich (16) und fand tatsächlich eine Beziehung zwischen London-Bindungsenergien und Purinlöslichkeit in wässriger DNA-Lösung.

Nagata et al. (17a,b) klärten die Anordnung der Kohlenwasserstoffe an der DNA auf. Sie benutzten die Methode des "flow-dichroismus", d.h. nur wenn die Ebene des Moleküls (KH) parallel zur Ebene des polarisierten Lichtes steht, kann diese Strahlung vom Molekül absorbiert werden, während dies bei senkrechter Ebeneneinstellung nicht möglich ist. Es konnte damit gezeigt werden, daß Phenanthren, Pyren, 3.4-BP, Tricycloquinazolin intercaliert werden, d.h. parallel zu den Ebenen der Basen in die DNA eingeschoben werden, wohingegen 20-methylcholanthren, Naphtacen und Pentacen senkrecht zur Basenebene orientiert sind.

Abb.6



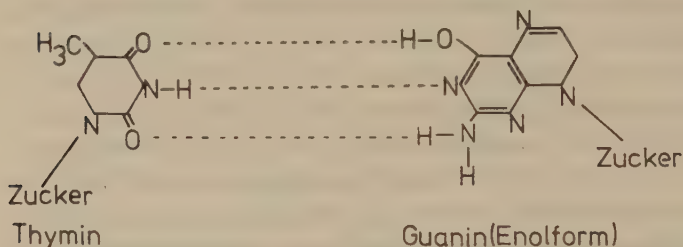
Intercalation



Anlagerung

Um in den Raum zwischen die einzelnen Basenpaare zu passen, müssen die Moleküle eine annähernd adäquate Ebene besitzen. Haddow zeigte, daß viele kanzerogene Polycyclika tatsächlich in Form und Größe den Purin-Pyrimidin Basenpaaren ähnlich sind wie z.B. 3,4-8,9 Dibenzpyren. Nach Arcos und Arcos (18) soll durch

eine polarisierte Bindung zwischen den eingeschobenen Kohlenwasserstoffmolekülen und den Basen eine Keto-Enol Umlagerung der Basen erfolgen. Dies führt dann zu einer falschen Paarung, da die Ausbildung der H-Brücken mit einer anderen Base wesentlich günstiger liegen können. Z.B. wird die Enol-Form von Guanin jetzt mit Thymin statt mit Cytosin paaren (19).



Es könnte also auf diese Weise durchaus eine Mutation stattfinden, ob diese aber in Beziehung zur Karzinogenese steht, ist äußerst fraglich. Betrachten wir beispielsweise die Vorgänge bei der identischen Reduplikation der DNA. Auch hier erfolgt ein Auseinanderweichen der Basenpaare, eine Lösung der H-Brücken, die als wahrscheinlichste Ursache in einer Umlagerung liegt. Die Energie hierfür könnte durch Beteiligung von Enzymen erreicht werden, die regeneriert werden, wenn der neugebildete DNA-Strang mit dem alten wechselwirkt.

Da die Beobachtungen der Base-Kohlenwasserstoff-Komplexe in vitro nachgewiesen wurden, bestehen berechtigte Zweifel, ob sie ebenfalls auf in vivo Bedingungen anwendbar sind. Es wäre denkbar, daß diese Stoffe einen anderen Weg im Organismus nehmen, beispielsweise durch eine Beteiligung von Enzymen. Es geht ebenfalls nicht hervor, ob durch die im Organismus stattfindenden Abbau- und Umbauvorgänge überhaupt noch eine Anlagerung stattfinden kann und die Kanzerogene nicht vorher eine WW mit anderen in der Zelle vorhandenen Molekülen eingehen.

So konnte ebenfalls nachgewiesen werden, daß dieses Intercalationsmodell auch Bedeutung besaß für Wechselbeziehungen zwischen DNA und vielen anderen Stoffen, die für andere Effekte als Karzinogenese verantwortlich sind. Z.B. werden Ethidiumbromid (Warning 1965), Miracil D, Chloroquin (O'Brien, Allison, Hahn 1966) und ebenfalls Aktinomycin D intercaliert. Es kann also keine signifikante Beziehung zur Karzinogenese hergestellt werden.

Auf der anderen Seite ist es theoretisch nicht auszuschließen, daß diese Kräfte, insbesondere weil sie eine hohe Spezifität aufweisen können, im Zusammenhang mit der Krebsentstehung stehen; es sind jedoch bisher keine Stützen gefunden worden.

b) charge transfer für noch geringere oder vergleichbare Abstände

Die charge-transfer Komplexbildung beschreibt eine sehr enge Beziehung zweier Moleküle, welche eine gegenseitige Neigung zum partiellen Elektronenaustausch von Donator zu Akzeptor besitzen.

Mulliken (20) untersuchte einige Fälle und stellte fest, daß zwar räumliche Nähe und Austauschneigung existierten, jedoch erfolgte der völlige Austausch eines Elektrons nicht. Im Grundzustand sind die Strukturen von Donator und Akzeptor im wesentlichen unbeeinflusst, es wird aber schon eine energetische Verbesserung, d.h. Minimalisierung erreicht im Gegensatz zu den isolierten Molekülen. Um einen vollständigen Transfer des Elektrons zu erreichen, muß genügend Energie dem System zugeführt werden, die einer Anregung des Zustandes entspricht. Die Absorption dieser Energie führt schließlich zu einer neuen, charakteristischen Bande im Spektrum. Folgende Bedingungen müssen für den Elektronenaustausch zwischen den Grundzuständen der Partner erfüllt sein:

1) Die Geometrie der beteiligten Moleküle muß so be-

schaffen sein, daß eine hinreichend starke Überlappung der Orbitale erreicht wird.

- 2) Die Energiezustände von Donator und Akzeptor sollen so liegen, daß sehr wenig Energie zum Elektronentransfer benötigt wird, d.h. die Energiedifferenz zwischen dem höchsten besetzten (highest occupied = h_o) MO des Donormoleküls und dem niedrigsten unbesetzten (lowest unoccupied = l_u) MO des Akzeptors muß sehr gering sein. Das Elektron kann also zum anderen Molekül überwechseln, wenn die zugeführte Energie den Wert der Energiedifferenz der betrachteten Orbitale annimmt.

Findet dieser Vorgang, den wir zwischen 2 Molekülen betrachtet haben, im gleichen Molekül statt, so ist der energetisch niedrigste Anregungszustand des Moleküls erreicht. Dies kann beispielsweise durch Absorption von Licht einer bestimmten Frequenz erfolgen. Mit dieser Anregung ändern sich die Elektronendichteverteilungen und somit, wie leicht einzusehen ist, die Reaktivität und Stabilität. Folgendes Schema versucht dies zu verdeutlichen.

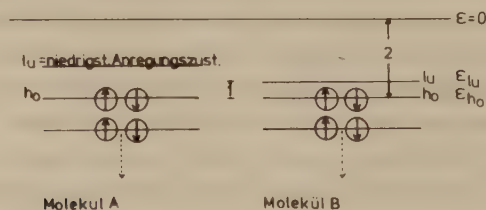


Abb.7

- 1: bezeichnet die Energie, die aufgewendet werden muß, um einen Charge transfer zwischen beiden Molekülen herzustellen. Wie man sieht, ist dieser begünstigt, da der niedrigste Anregungszustand des gleichen Moleküls energetisch wesentlich höher liegt.
- 2: Ionisierungsenergie=Energie, die notwendig ist, um ein Elektron im Grundzustand vom Molekül unendlich weit zu entfernen.

Umgekehrt ist die Elektronenaffinität, die das Bestreben, Elektronen zu binden, bezeichnet, gleich der Energie des $1u$ -Orbitals (ϵ_{1u}). Spontane Donatorfähigkeit kann ebenfalls auftreten, wenn nämlich das $1u$ -Orbital des Akzeptors unter dem ho -Orbital des Donators liegt, die Elektronenaffinität des Akzeptors größer ist als das Ionisierungspotential des Donors. Man kann also sagen, daß Reaktivität des Elektrons größer wird, je niedriger das Ionisierungspotential ist. Um ein Elektron in das nächsthöher gelegene Band zu bringen, das Molekül also anzuregen, benötigt man Energie. Ist die zwischen zwei Banden gelegene verbotene Zone zu groß, kann keine Leitfähigkeit erzeugt werden, die Substanz ist ein Isolator.

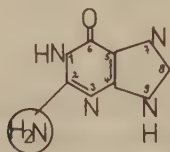
Um eine maximale Überlappung von Donor- und Akzeptor-orbitalen zu erreichen, müssen die beiden Komponente einen Komplex bilden, der auf kurzreichweitigen WW (van der Waal's, Dipol-Dipol) beruht. Betrachten wir einmal folgenden Fall: Der Donator (D) gibt ein Elektron ab und wird somit zum Akzeptor (A). Er nimmt wieder ein Elektron auf, welches von einem höhergelegenen Orbital eines anderen Moleküls kommt. Das ursprüngliche auf ein höheres Niveau angeregte Elektron fällt wieder zurück, kann aber seinen alten Platz nicht mehr einnehmen und ist jetzt in der Lage, ein freies Radikal zu bilden. Über die Bedeutung dieser Radikale wird später berichtet.

Dem charge-transfer kommt möglicherweise eine größere Bedeutung zu, als bisher angenommen wird (21). Bei allen WW zwischen dicht beieinanderliegenden Molekülen ist er sicherlich beteiligt, wenn auch infolge der Energieunschärfe eine Bestimmung oft nicht möglich ist. So kann ein Elektron kurzzeitig angeregt werden, ein höheres Niveau einnehmen und wieder zurückfallen, oder aber zwischen gleichen Niveaus sind fast alle Übergänge kurzzeitig oder längerdauernd möglich. Als Beispiel dient der charge-transfer in

Peptiden; diese Bindungsenergie ist wesentlich schwächer als die der H-Brücke. Sie findet statt zwischen dem Donatormolekül N und der Akzeptorgruppe C=O und trägt ebenfalls zur Stabilisierung der Ketten bei. Die Halbleitereigenschaften der Proteine, die durch Anlegen eines Feldes beobachtet werden können, sind wahrscheinlich Folge des Tunneleffektes. Die Beeinflussung des Atoms durch das Störpotential des wechselwirkenden Atoms oder Atomgruppe schafft Potentialmulden im Außenbereich, so daß der Potentialwall von Elektronen durchtunnelt werden kann. Dadurch werden auch Ionisierungszustände bedeutend und letztlich ist auch der Overlap- und Elektronentransfer nicht ohne diesen Tunneleffekt vollständig zu verstehen.

Ein charge-transfer ist ebenfalls für die Wirkung des Antimalaria-Mittels Chloroquin verantwortlich gemacht worden (21), das, wie oben berichtet wurde, in die DNA intercaliert wird. Es bildet einen Komplex mit der DNA der Malariaparasiten und blockiert deren DNA- und RNA-Synthese.

WW-Partner soll das Guanin sein, das, wie alle Purine, ein starker Elektronendonator ist. Spektrumsänderungen, die Guanin bei Chloroquin erzeugt, konnten jedoch nicht vom Inosin, welchem die 2-Aminogruppe fehlt, induziert werden. Die starken Donoreigenschaften sind dieser Gruppe zuzuschreiben.



Mehrere Autoren haben ebenfalls den charge-transfer als entscheidenden Schritt in der Karzinogenese postuliert. So meinte Mason, daß die karzinogene Aktivität vom Transfer eines Elektrons vom Protein zum Kohlenwasserstoff abhängt (22). Er stellte die Be-

ziehung $\Delta E = 3,24 \pm 0,11$ eV auf.

Danach soll der Kohlenwasserstoff eine unbesetzte Schale über dem höchst-besetzten Orbital aufweisen, mit dieser Energiedifferenz. Er nahm an, daß das unbesetzte Band des KW ungefähr der Energie des höchst-gefüllten Bandes eines Proteins gleichkommt. Ein Elektron soll somit in der Lage sein, vom Protein zum Karzinogen überzuwechseln. Es gelang ihm mit dieser Methode, aus 34 berechneten KW, diese 5, die tatsächlich karzinogen waren, richtig zu erfassen. Er machte jedoch einige sehr spektakuläre Voraussetzungen und Schlußfolgerungen. So ist es sicherlich richtig, daß eine Anzahl isoliert betrachteter karzinogener KW diese Energiedifferenz zeigt, sie ist aber sicherlich ebenfalls bei anderen Molekülen zu finden. Außerdem wird das Postulat der energetischen Gleichheit der Orbitale von Protein (ho) und KW (lu) nur in den seltensten Fällen zutreffen und irgendein anderes Donatormolekül wäre ebenfalls in der Lage, mit dem KW zu wechselwirken.

Es ist aber auch möglich, einige Beobachtungen mit dieser Theorie zu erklären. Durch Bestrahlen mit Photonen einer Energie über $\sim 3\text{eV}$ können Proteinelektronen in ein Leitungsband angeregt werden. Diese Änderung könnte dann auf irgendeine Art zur Karzinogenese führen. Pullman et Pullman zeigten jedoch auf Grund ihrer Rechnungen, daß ΔE nicht 3,24, sondern $\sim 5,24$ eV beträgt. Sie benutzten außer den 4π -Elektronen in der Proteinbindung noch die beiden σ -Elektronen und konnten ebenfalls zahlreiche Ausnahmen feststellen (23,24).

Ein Alternative wurde von Hoffmann und Ladik angeboten, die einen charge-transfer von DNA zum karzinogenen KW annahmen (25), mit der gleichen Berechtigung wie Mason. Sie errechneten die Energiedifferenz als 3,5 eV. Diese Energie stimmt besser überein mit der niedrigsten Bestrahlungsenergie, welche Tumoren er-

zeugen kann, von $\sim 3,4$ eV. So soll eine DNA-Leitfähigkeit resultieren infolge von Elektronenanregungen. Es gelten prinzipiell ähnliche Einwände wie bei der Mason Hypothese. Eine weitere Theorie stammt von Löwdin (26), der annimmt, daß ein Proton der H-Bindung zwischen den Basenpaaren der DNA zur gegenüberliegenden Base hinübertunnelt. Somit werden beide zu tautomeren Formen umgewandelt. Die Folge ist eine falsche Basenpaarung und somit Mutationen. Ausgelöst werden soll dieser Effekt durch karzinogene Stoffe, die eine Ladungsumverteilung in den Basen bewirken. Es ist jedoch nicht einzusehen, weshalb nur Karzinogene, die teilweise chemisch äußerst inert sind, diesen Effekt induzieren sollen. Ebensogut können alle Stoffe, die elektrische Teilladungen aufweisen, hierfür verantwortlich sein. Eine tautomere Umlagerung tritt außerdem mit großer Wahrscheinlichkeit beim Aufreißen der H-Brücken zur Replikation der DNA auf. Neuere experimentelle Befunde von Franke und Büchner (27) zeigten eine lineare Beziehung zwischen Elektronenübergangsenergien und karzinogener Aktivität, wobei die Aktivität mit steigenden Werten für ΔE abnimmt. Zwar haben diese Aussagen statistisch hochsignifikanten Charakter, es ist aber nicht möglich, wie bei der Theorie von Mason, zutreffende Aussagen über einzelne Kohlenwasserstoffe zu machen. Auch daß eine Störung durch den Einfluß von Sekundärfaktoren, beispielsweise hydrophobe Komplexbindung mit Proteinen, zustande kam, konnte von den Autoren ausgeschlossen werden. Sie gelangen aufgrund ihrer Untersuchungen zu der Annahme, daß der Zusammenhang zwischen Elektronenübergangsenergien und karzinogener Aktivität nicht genügend groß ist, um eine echte Beziehung zwischen beiden aufzudecken. Es wird eine andere Größe vermutet, wie photodynamische Aktivität oder chemische Reaktivität. Ein charge-transfer kann hiermit natürlich nicht ausgeschlossen werden. So wäre

es immerhin möglich, daß dadurch die Eigenschaften der Moleküle soweit geändert würden und eine weitere Bindung wie beispielsweise H-Brücken oder kovalente Bindung begünstigt wird, die ebenfalls im Zusammenhang zur Karzinogenese steht.

c) chemische Bindung

Für noch geringere Abstände erscheint es nicht mehr sinnvoll, die Moleküle als isolierte Gebilde zu betrachten. Sie verlieren ihre individuellen Eigenschaften, da es nicht mehr möglich ist, die Elektronen an einem Molekül zu lokalisieren. Sie gehören beiden Molekülen an und erreichen somit einen energetisch "ärmeren" Zustand, dessen Stabilität folglich sehr groß ist. Diese Bindung ist nicht mehr reversibel, wie die Dispersionskräfte oder die Dipol-Dipol WW, sondern es muß zur Spaltung eine Energie aufgewendet werden, die gleich oder größer ist als die bei der Bildung freigewordene. Da mit abnehmendem Abstand die WW spezifischer werden, wäre von der chemischen Bindung eine sehr hohe Spezifität vor allem in Bezug auf die beteiligten Partnermoleküle zu erwarten. Um ein Maß für die chemische Reaktivität solcher Moleküle zu finden, wurden die Ladungsverteilungen in verschiedenen Modellen betrachtet.

1.) Modell der Lokalisierungsenergien (dynamisches Modell)

Hier wird angenommen, daß die Energiebarriere, um die Reaktion in Gang zu setzen, durch eine aktivierte Komplexbildung der Reaktanten überwunden wird. Dadurch wird eine Bindung gebildet und es findet eine Umverteilung von π -Elektronen statt.

2.) Es wird ein loser Komplex gebildet, der die Grundzustände beider Moleküle beinhaltet. Das π -System wird kaum geändert. Somit kann also in diesem Modell durch Ladungsdichte und freie Valenz der Angriffspunkt eines Partnermoleküls bestimmt wer-

den. Dies ist das statische Modell. Eine elektrophile Reaktion würde also an Stelle der größten negativen Ladungsdichte und eine nucleophile an einer stark positiven Seite stattfinden. Obgleich bei verschiedenen Molekülen die Voraussagen zutrafen, traten ebenfalls eine ganze Anzahl von Ausnahmen auf. Es kann also nicht ohne weiteres die Ladungsverteilung als ein Reaktivitätsindex betrachtet werden.

Eine andere Näherung wurde von Fukui et al. (28) vorgeschlagen. Diese Theorie besagt, daß das am lockersten gebundene Elektron bevorzugt mit einem elektrophilen Partner reagieren wird. Die größte π -Elektronendichte im ho-Orbital würde die reaktivste nucleophile Stelle im Molekül darstellen. Zum Vergleich der Reaktivitäten wird der Superdelokalisierungsindex verwendet. Er wurde in einer Reihe heterocyclischer aromatischer Moleküle berechnet und stimmte mit den tatsächlichen Ergebnissen überein. (29)

Große Bedeutung erlangte die Pullman'sche Arbeit über die elektronischen Strukturen karzinogener Kohlenwasserstoffe (30). Wie schon früher berichtet wurde, konnte durch Berechnen der Lokalisierungsenergien 2 Regionen im Molekül bestimmt werden, die K- und L-Region. Das Auftreten einer karzinogenen Aktivität im aromatischen KH soll nun durch die Existenz einer aktiven K-Region festgelegt sein. Enthält das Molekül weiterhin eine L-Region, so sollte diese inaktiv sein.

Nach Berechnungen von ~40 polycyclischen KH ist festgestellt worden:

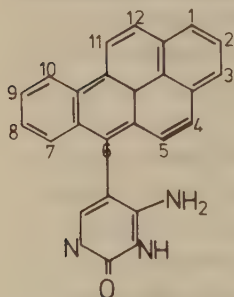
1. Das Erscheinen einer kanzerogenen Aktivität wird durch den Index $(BLE + CLE_{min})$ festgelegt, der die K-Region beschreibt. Dieser muß gleich oder kleiner sein als 3,13 β (β -Resonanzintegral)
2. Besitzt das Molekül auch eine L-Region, muß der Index dieser Region $(PLE + CLE_{min})$ gleich oder größer als 5,66 β sein, um kanzerogen zu sein. Ver-

kleinert sich dieser L-Region Index, so kann der Effekt der K-Region aufgehoben werden, das Molekül erscheint inaktiv.

Wir können also feststellen, daß die Reaktivität mit sinkenden Indizes steigt, d.h. bei einer aktiven K- und einer inaktiven L-Region wird eine Reaktion an der K-Region stattfinden, während bei einer aktiven L-Region ein Reaktionspartner bevorzugt an dieser Stelle angreifen würde. Die Reaktivität der L-Region wird gemessen an der Möglichkeit, cyclische Additionen oder normale Additionen einzugehen durch Reaktionspartner, die getrennt an den beiden C-Atomen angreifen. Der entscheidende Schritt in der Karzinogenese soll also nach Pullman eine elektrophile Additionsreaktion an der K-Region des Moleküls sein.

Weitere Untersuchungen stammten von F. Hoffmann, der das LCAO-MO-SCF Verfahren zugrunde legte (s.o.) und von Mainster und Memory (31), welche die Superdelokalisierbarkeit an der K- und L-Region berechneten. Die Beziehung zwischen K-Region Index I_K , L-Region Index I_L und der Aktivität bestätigte die Pullman'sche Theorie. Und zwar waren aromatische KH karzinogen, wenn $I_K \geq 2,05$ ($1/\beta$) und $I_L \leq 2,3$ ($1/\beta$). Trotzdem ergeben sich einige Schwierigkeiten bei diesen Überlegungen. Es ist sehr fraglich, ob die verwendeten MO-Kalkulationen auch tatsächlich die realen Zustände richtig wiedergeben. So werden die Energieänderungen, die durch Wechselwirkungen mit benachbarten Molekülen oder in Lösungen auftreten, nicht berücksichtigt. Auch eventuell auftretende Anregungszustände werden nicht beachtet. Schon von daher ist dieses Modell nur sehr beschränkt auf Zustände in der Zelle anwendbar. Es konnten außerdem eine Anzahl von Ausnahmen festgestellt werden. So soll Anthanthren nach den Berechnungen eine aktive K- und eine inaktive L-Region aufweisen, müßte also karzinogen sein; dies ist nicht der Fall, es ist in-

aktiv (32). Weiterhin sollte Benzphenanthren nach den Berechnungen inaktiv sein, es läßt sich aber Kanzerogenität nachweisen. Eine Reihe weiterer Untersuchungen, wie die von Cavalieri und Calvin (33) zeigten, daß die K-Region nicht die reaktionsfähigste Stelle im Molekül darstellt, sondern daß bei 3.4-BP das Kohlenstoffatom C_6 am reaktivsten ist, welches direkt neben der K-Region liegt. In vitro Versuche der Base mit dem Cytosin zeigten, daß die nucleophile 5-Position der Base mit dem C_6 des Kohlenwasserstoffes reagiert.



Die K-Region liegt zwischen C_4 und C_5 des 3,4-BP

Da diese Untersuchungen, wie betont alle auf in vitro-Bedingungen beruhen, können sie nicht mit solchen in vivo gleichgesetzt werden. So wäre es durchaus möglich, daß eine Reaktion nicht an der chemisch reaktivsten Stelle im Molekül angreift, sondern gerade die Mitbeteiligung von Enzymen könnte eine andere Stelle bevorzugen, die unabhängig von der ursprünglich berechneten Reaktivität wäre.

Auf dieses Problem werden wir später zurückkommen. Zuerst wollen wir untersuchen, ob es überhaupt Anhaltspunkte für eine chemische Bindung in der Karzinogenese gibt und wenn ja, ob sie tatsächlich den initiierenden Schritt darstellt.

Ein sehr starkes Argument lieferten die Untersuchungsergebnisse von Ts'o, Lesko und Uman (34). Sie stellten fest, daß die Löslichkeit von 1.2-BP und 3.4-BP

in wässriger Pufferlösung ungefähr diegleiche ist. Weiter konnte durch Zentrifugation, Elektrophorese und Absorptionsspektren bewiesen werden, daß dieser Komplex allein auf physikalischen WW beruhte. Er zeigte jedoch keine Spezifität in Beziehung zur karzinogenen Aktivität. Das Auftreten eines "red shifts" im sichtbaren Spektrum von 3.4-BP ist völlig abhängig von der Anwesenheit starker stacking interactions, die sich in wässriger Lösung, jedoch nicht in organischen Lösungsmitteln ausbilden. Durch Behandeln mit Äthanol-Lösung konnte 99,7% der physikalisch gebundenen Kohlenwasserstoffe extrahiert werden. Eine Extraktion ist nicht mehr möglich, wenn 3.4-BP kovalent an die DNA gebunden ist. Eine chemische Bindung kann beispielsweise induziert werden durch Photobestrahlung bei Wellenlängen über 340 nm. Diese Reaktion ist sehr spezifisch, 3.4-BP wird kovalent an die DNA gebunden, während 1.2-BP nur in demselben Ausmaße reagiert, wie bei Abwesenheit der Strahlung. Durch spektroskopische Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß die Nucleinsäuren in diesem Bereich kaum Energie absorbieren. Es zeigte sich jedoch, daß für 3.4-BP eine Absorptionsbande existiert ($300 \text{ m}\mu \sim 3,1 \text{ eV}$). Der Anregungszustand liegt ebenfalls in dieser Größenordnung, sodaß eine durch spezifische Anregung des Moleküls induzierte chemische Bindung angenommen werden kann. Weitere Versuche machten deutlich, daß durch J_2 und H_2O_2 ebenfalls eine kovalente Bindung erreicht wird, welche die gleiche Spezifität wie die photoinduzierte aufweist. Die Reaktion von 3.4-BP mit der DNA ist basenspezifisch und der Grad der Spezifität ist vom aktivierenden System abhängig. Im J_2 -System ist Poly-G am reaktivsten, während bei der H_2O_2 -induzierten Reaktion 3.4-BP mit Poly-G und Poly-A reagiert. Der chemische Mechanismus ist deshalb bei den verschiedenen Aktivatoren sicherlich nicht gleich. Die Hauptfrage stellt

sich jetzt nach der Aktivierung in vivo. Wie kann die Zelle einen relativ inerten Kohlenwasserstoff dazu bringen, eine chemische Bindung mit der DNA einzugehen?

So berichten Corbett et al.(35), daß DMBA und 3.4-BP in maximaler Konzentration nicht toxisch auf Bakterienzellen wirken und keine mutagene Aktivität hervorrufen, während diese Stoffe höchst toxisch und zelltransformierend in Säugetierzellen wirken. Sie vermuteten, daß die Abwesenheit einer endgültigen reaktiven Form in Bakterienzellen die Ursache sein könnte. In Übereinstimmung damit konnten Maher, Lesko, Straat und Ts'o nachweisen, daß durch 3.4-BP kovalent an DNA gebunden (durch J_2 oder H_2O_2 induziert), die Frequenz der Mutation wächst. Dieses Ansteigen der Mutationen ist direkt verbunden mit dem Verlust von transformierender Aktivität (36). Im physikalischen Komplex ist die transformierende Aktivität 100% erhalten und kein Anwachsen der Mutationsrate konnte festgestellt werden. Weiterhin war es sehr interessant, daß 89% der Spontanmutationen der Kontroll DNA reversibel waren, während die Mutationen des Jod-induzierten Komplexes Irreversibilität aufwiesen. Wir müssen also annehmen, daß der "repair-Mechanismus" der Zelle auf Spontanmutationen wirkt, jedoch keinen Einfluß mehr hat auf Veränderungen, die durch chemische Bindung ausgelöst wurden. Dies legt die Vermutung nahe, daß das Karzinogen an die DNA fixiert bleibt und der repair nicht in der Lage ist, diese Bindung aufzuspalten.

Auch andere Untersuchungen über die Reaktivität dieser Kohlenwasserstoffe, chemische Bindungen zu bilden mit Nucleinsäuren in Zellkulturen und Maus-Haut zeigten eine starke Abhängigkeit zu ihrer Kanzerogenität (37,38,39).

Die großen Unterschiede, die in der Wirkung karzinogener Kohlenwasserstoffe bei verschiedenen Tierstäm-

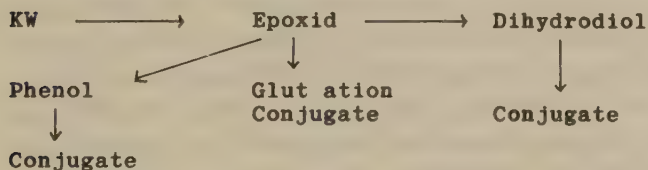
men beobachtet wurden, läßt uns an eine Mitbeteiligung von Enzymen denken. Das Enzymmuster ist in verschiedenen Stämmen unterschiedlich, ebenso besitzen die einzelnen Organe allein im menschlichen Körper voneinander abweichende Enzymsysteme, die aufgrund des genetischen Codes auf ihre Aufgaben abgestimmt sind. So wird beispielsweise das Pepsin nur in der Magenschleimhaut, nicht aber in Leber oder Niere gebildet. Die dafür verantwortlichen Gene sind in diesen Zellen abgedeckt und inaktiv.

Schon sehr früh ist beobachtet worden, daß bestimmte Karzinogene für Tumoren in speziellen Organen verantwortlich sind, so das β -Naphthylamin für Blasen-tumoren. Experimente, bei denen dieses Karzinogen direkt in die Blase der Versuchstiere eingeführt wurde, traten nur selten Tumoren auf, jedoch fast regelmäßig bei Verfütterung.

Der Gedanke, daß erst im Körper die aktive Form der Karzinogene entsteht, ist naheliegend. Es stellt sich weiterhin die Frage nach der Natur des "ultimate carcinogens".

So konnte durch Inkubation mit "mixed function hydroxylasen" ebenfalls eine kovalente Bindung erzeugt werden (40,41).

Das folgende Schema gibt die hauptsächlichen Produkte bei der Kohlenwasserstoffmetabolisierung wieder.



Als Unterscheidungsmerkmal von Nichtkanzerogenen wurde angenommen, daß bei karzinogenen KW die Epoxidbildung an der Pullman'schen K-Region stattfindet. So konnten sehr reaktionsfähige Epoxide der K-Region isoliert werden, die karzinogener waren als die ursprünglichen KW (42,43).

In sehr detaillierten Versuchen fand Huberman et al. (1972), daß in Hamsterembryofibroblasten die K-Region Epoxide von BA, DBA, 7-Me-BA und MCA aktiver in maligner Transformationsentstehung waren, als andere Derivate oder die ursprünglichen Kohlenwasserstoffe. Die nicht K-Region 8,9 Epoxide von BA waren nicht aktiv, ebenfalls nicht das chemisch reaktive Modell der Methylgruppenaktivierung, 7-brommethyl-BA (44). Bei den aktiven Metaboliten konnte auch eine chemische Bindung nachgewiesen werden, die bei den inaktiven fehlte. Es taucht die Frage auf, ob diese aktivierten Derivate auch tatsächlich im Metabolismus auftreten. Grover und Selkirk fanden unabhängig voneinander Epoxide von DBA, Phenanthren, BA, Pyren und BP (45).

Wir müssen uns also vorstellen, daß an den Mikrosomen im Cytoplasma unter Enzymeinwirkung ein sehr reaktionsfähiges Produkt, eben das Epoxid gebildet wird, welches infolge seiner hohen Reaktivität sofort mit anderen Zellbestandteilen reagieren müßte. Es erscheint schon deshalb sehr unwahrscheinlich, daß es in dieser Form zuerst in den Zellkern wandert, um dort mit der DNA eine kovalente Bindung einzugehen.

Huberman et al. fanden als metabolische Zwischenprodukte der Kohlenwasserstoffe Dihydrodirole und Phenole (46). Es wurde eine starke Beziehung zwischen Cytotoxizität und Umwandlung in wasserlösliche Produkte gefunden, wobei die Phenole toxischer als Dihydrodirole und ursprüngliche Stoffe waren. Hier tritt also die an sich paradoxe Situation auf, daß ein Enzymsystem, welches für den Abbau von Stof-

fen sorgt, erst das eigentlich aktive Produkt bildet, das zum Schaden der Zelle und zu ihrem Untergang führen kann. Dies veranlasste viele, an eine gleichartige Aktivierung in der karzinogenen Wirkung zu glauben. Die K-Region Epoxide sind es sicherlich nicht in allen Fällen, da es zu viele Ausnahmen bei dieser Hypothese gibt. So konnten Miller und Miller nachweisen, daß die K-Region Epoxide von 7-methylbenzanthracen weniger aktiv waren als der Kohlenwasserstoff selbst (47). Auch die tatsächliche Bildung von K-Region Epoxiden in vivo steht in Frage. Sims fand, daß 8,9 Epoxide die Hauptmetabolite von Benzanthracen und ebenfalls weniger aktiv waren, nicht die K-Region Epoxide (48). Da die Versuche über diese Epoxide in vitro gemacht wurden, ist es sehr wahrscheinlich, daß sie infolge ihrer Reaktivität sofort mit anderen Zellbestandteilen reagieren, ohne eine Transformation auslösen zu müssen.

Eine Beobachtung erscheint sehr interessant. Das Ausmaß der Bindung von 3.4-BP an die DNA wächst mit der Mikrosomen -d.h.also der Enzymkonzentration. Dieses Enzymsystem ist in vivo induzierbar durch polycyclische Kohlenwasserstoffe (49). Induzierer werden in weniger als 1 min. in die Zelle inkorporiert und eine 1-2 min. Expositionsdauer genügt, um eine Induktion von mehr als 6 Std. anzuregen. Die Enzymaktivität beginnt nach ~35 min. Halbwertszeit beträgt 3-4 Std. Weitere Beobachtungen zeigten, daß Zellen, die hochresistent gegen den toxischen Effekt von BP sind, wenig oder keine Enzymaktivität besitzen (52,53). Den großen Einfluß der Enzyme auf die Aktivierung macht auch der Versuch deutlich, in dem 7,8 Benzoflavin, das, wie bekannt ist, die Enzyme in Mäusehaut-Homogenaten inhibiert, ebenfalls auch kein durch 7,12 Dimethylbenzanthracen induzierter Hautkrebs auftrat (49). Außerdem hemmt 7,8 Benzoflavin, in Dosen äquimolar mit DMBA appliziert, die

Bindung von DMBA an die DNA (50). 7,8 Benzflavon hat aber keinen Effekt auf BP-induzierte Tumoren. Es wurde ganz klar gezeigt, daß bei gleichzeitiger Gabe von BP und Benzflavon kein hemmender Effekt auf die Tumorbildung auftrat. Wir können daraus schließen, daß das Aktivierungs- und Detoxifikationssystem für polycyclische Kohlenwasserstoffe unterschiedlich ist. Eine andere Beobachtung machten Kato und Takaynaghi. Sie beschrieben die Inhibition von Enzymen (mixed function oxidases) durch 3-methylcholanthren bei Ratten (54). Es ist augenscheinlich, daß die Induktion von Enzymen keinen universellen Effekt darstellt, sondern daß sie ebenfalls einige Enzyme inhibieren können. Im allgemeinen scheint der Induktionseffekt an einem Anwachsen der Enzymproteine zu liegen und nicht an einer steigenden Affinität des Enzyms zum Substrat. Durch 3,4-BP und Phenobarbital wird die $v_{\max}$ der p-nitroanisol-o-demethylase gesteigert, während k_m oder die Suszeptibilität des Enzyms zum Inhibitor nicht beeinflußt wird (55).

Wenn 7,8 BF die Tumorentstehung durch DMBA hemmen soll, muß der Inhibitor innerhalb von 12 Std. nach dem Onkogen zugeführt werden. Dies wurde damit erklärt, daß die metabolische Aktivierung von DMBA in dieser Zeit abgeschlossen ist (51).

Ebenso wie Inhibitoren der Karzinogenese sind auch Promotor-Substanzen bekannt, die ihrerseits keine Karzinogene sind. Ein gut untersuchtes Beispiel ist das Crotonöl. Mit einer unterschwelligen Dosis eines Karzinogens kombiniert können Tumoren erzeugt werden, die durch Alleinbehandlung mit Crotonöl oder dem Karzinogen in dieser Dosierung nicht induziert werden können (56). Der Gedanke liegt nahe, daß der "promoting factor" ganz spezifisch Enzyme induzieren kann. Auch ergaben weitere quantitative Analysen, daß die initiiierende Karzinogendosis für die Tumorausbeute zuständig ist, während die Promotion die

Latenzzeiten bestimmt durch den Zeitpunkt der Croton-ölbehandlung. Es wird angenommen, daß die Karzinogene über eine Enzyminduktion lediglich das Wachstum beschleunigen, sodaß der karzinogene Effekt schneller auftritt. (siehe Ryser)

Es sind nur wenige Beispiele bekannt, wo k_m geändert wird. So erhöht z.B. 3-methylcholanthren die v_{max} der 3.4-BP-Hydroxylase = mixed function oxidase mit gleichzeitigem Abnehmen der k_m (57), während das Zufügen von 3.4-BP die k_m reduziert, ohne v_{max} zu ändern (58).

Wird v_{max} , nicht aber k_m reduziert, so spricht dies für ein Absinken des Enzymbetrages. Das bedeutet, 3-methylcholanthren hat keine hohe Affinität zu dem Enzym Hydroxylase, während diese bei 3.4-BP steigt. Dieses Substrat wird bevorzugt gebunden und auch umgesetzt.

Diesen Sachverhalt der Induktion und Inhibition von Enzymen kann man mit dem Jacob-Monod'schen Schema erklären: Die Ablesung der DNA wird durch einen Repressor unterdrückt. Der Kohlenwasserstoff ist aber in der Lage, das Repressormolekül abzufangen bzw. zu inaktivieren. Dadurch wird ein DNA-Stück freigelegt, die m-RNA Synthese kommt in Gang und es wird schließlich an den Ribosomen das Enzymprotein gebildet. Dieser Schritt stellt die Induktion von Enzymen dar. Das gebildete Protein kann nun den Repressor darstellen oder enthalten für einen anderen Teil der DNA, womit die Inhibition von Enzymen erklärt wird. Dieser Mechanismus ist für zahlreiche Hormone schon gut belegt. So ist die Hormonwirkung auf eine Enzyminduktion zurückzuführen, welche hinwiederum ATP in cyclisches AMP spaltet. Das AMP kann in zahlreiche Prozesse eingreifen, es stimuliert Lipolyse, Steroidsynthese in Nebennieren usw.

Eine Verbindung zwischen Hormonen und Kohlenwasserstoffen läßt sich leicht aufzeigen, da der Effekt

verschiedener Hormone, wie Thyroxin, Hydrocortison, Östrogen und Wachstumshormon auf die Proteinsynthese, ähnlich der von polycyclischen KH ist (59,60):

- 1) Anwachsen der m-RNA von MC-behandelten Ratten
 - 2) Höhere Aktivität der DNA abhängigen RNA-Polymerase
- (61)

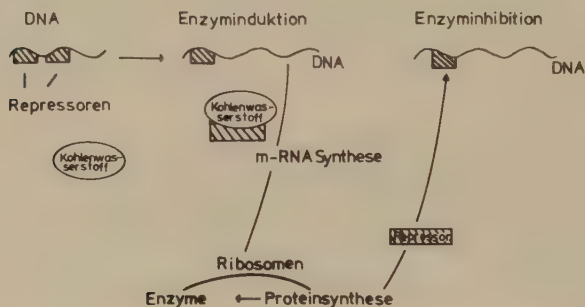


Abb. 8

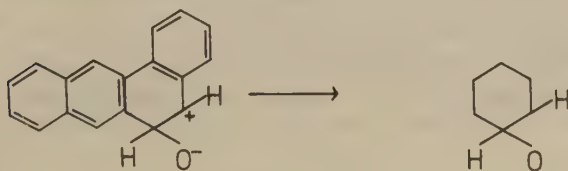
Duncan et al. (62) untersuchten das Abbauverhältnis einer Reihe markierter polycyclischer KH in Mäuseembryozellen. Sie stellten ebenfalls das Bindungsausmaß dieser KH an DNA und Proteine fest, ihr Bindungsindex wurde definiert als gebundene KH dividiert durch metabolisierte. Die Indices nahmen in folgender Reihenfolge ab: DMBA, MCA, 7-Me-BA, BP, DBA. Dies stimmt auch mit ihrer karzinogenen Aktivität überein, obwohl einige Schwierigkeiten beim Abbau dieser Stoffe auftraten. Es wurde gefunden, daß das onkogene DBA eine kleinere Metabolisierungsrate aufweist als das weniger karzinogene Isomer DBA (a,c) (63). In dieser Serie konnte keine Korrelation zwischen karzinogener Aktivität und Metabolismus festgestellt werden. Es scheint, daß einige KH nicht auf den Abbau angewiesen sind, um eine maligne Transformation zu erreichen, jedoch ist es sicherlich falsch, die Metabolisierungs-

geschwindigkeit mit der Aktivität zu verbinden. Es muß angenommen werden, daß die Geschwindigkeit erst nach einiger Zeit ansteigt, da außerdem die Enzymaktivität induziert werden muß. Auch ein inhibitorischer Effekt kommt in Betracht. So kann beispielsweise ein Enzym durch ein anderes Substrat blockiert werden, wie es bei 7,8 Benzflavon der Fall zu sein scheint (s.o.).

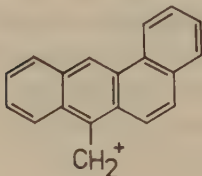
Eine alte Meinung, daß replizierende DNA mehr Karzinogene als die ruhende bindet, mußte durch neuere Untersuchungen von Kuroki und Heidelberger (64) und Conell et al. (65) aufgegeben werden. Sie entdeckten, daß die Bindung an DNA in "sich nichtteilenden Kulturen" wochenlang bestehenblieb und die Bindung von MCA an DNA in teilenden und nichtteilenden Zellen annähernd gleich ist. Weiter wurde die Aufnahme von markiertem DMBA in den Zellkern untersucht, ein Anwachsen linear mit der Zeit wurde beobachtet und obwohl zugesetzter Hydroxyharnstoff die Inkorporation von Thymidin hemmt, beeinflusste es nicht die Bindung von DMBA, das gleiche wurde beobachtet, wenn die DNA Synthese blockiert wurde. Dies zeigt klar, daß die DNA Synthese nicht Voraussetzung für die Bindung karzinogener Kohlenwasserstoffe ist.

Da die Epoxide augenscheinlich in vielen Fällen nicht "ultimate carcinogens" darstellen, erhebt sich die Frage nach anderen Mechanismen einer möglichen Aktivierung. Einen Alternativvorschlag lieferte Dipple et al. (66). Er machte die Bildung von Carboniumionen für den karzinogenen Effekt verantwortlich, und schlug 2 verschiedene Formen vor:

1) Die allgemeine Form für unsubstituierte KH



2) für methyl-substituierte KH



Er zeigte weiter, daß eine gute Korrelation bestand zwischen der berechneten Stabilität dieser Carbonium-Ionen und dem Ausmaß der Karzinogenität ihrer Mutter-substanzen.

Typ 1 wird als metabolisches Vorprodukt der Epoxide angesehen, dieser Vorschlag wird durch Arbeiten verschiedener Autoren unterstützt (67,68), die den Metabolismus von Naphtalen durch Leberhomogenate in einer O₂-18 enthaltenden Atmosphäre untersuchten. Sie konnten Diole, Phenole und ein Cystein-Derivat isolieren und machten Carboniumionen für die Bildung von Diolen (Reaktion mit H₂O) und Epoxide, die durch Ringschluß aus den Ionen entstehen, für die enzymatisch gebildeten Cystein-Metabolite verantwortlich. Da es außerdem nicht möglich war, die Epoxide in trans 1,2 - dihydrodiole zu überführen, die gefunden wurden, muß nach ihrer Meinung noch ein anderes Zwischenprodukt beteiligt sein.

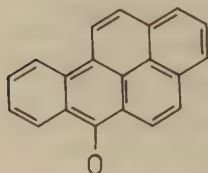
Im Fall von 7,12 dimethylbenzanthracen wurde als Modell der Methylgruppenaktivierung 7-brommethylbenzanthracen und 7-brommethyl-12-methylbenzanthracen festgestellt, wie theoretische und experimentelle Überlegungen zeigten (66). 7-brommethylbenzanthracen war nicht signifikant aktiv im Entwickeln maligner Transformation (69), während 7-brommethyl-12BA ungefähr so aktiv war wie die Epoxide der nichtkarzinogenen Chrysen und Phenanthren (70). Es war bisher nicht möglich zu beweisen, daß die Aktivierung einer Methylgruppe für die Onkogenität verantwort-

lich ist.

Ein anderer Mechanismus wurde von Wilk und Gierke vorgeschlagen (71). In einem rein chemischen Modell zeigten sie die Bildung von Radikal-Kationen durch Ein-Elektronen-Oxidation; die kovalente Bindung induziert durch J_2 wurde folgendermaßen erklärt. Der erste Schritt stellt eine monovalente Oxidation durch J_2 zu einem Radikal-Kation dar, das als elektrophiles Agens mit einem 2. Molekül des KH reagiert. Das Anfangsprodukt wird weiter oxidiert zu einem Dimer oder Tetramer (72). Berichten von Rochlitz zufolge soll nur ein Produkt gebildet worden sein, wenn eine Lösung karzinogener KH mit Pyridin an eine Mischgel-Oberfläche gebracht wird. Bei BP war es das 6-N-pyridinbenzpyrenyliodid. Wenn das an Mischgel absorbierte BP von Luft oxidiert wurde, konnten 3,6 Quinone in größerer Menge nachgewiesen werden. Sie werden ebenfalls unter physiologischen Bedingungen gebildet. Das Oxidationspotential des Ein-Elektronen Prozesses ($\sim 0,4$ V) wird durch freien Sauerstoff gewonnen. Mit den Hückel'schen MO-Berechnungen wurde für BP das Minimum der Lokalisierungsenergie erreicht, wenn sich die positive Ladung in Position 6 befand, die schon früher als reaktivste Stelle im Molekül entdeckt wurde. Des weiteren soll dieses elektrophile Radikal-Kation direkt am N-Atom 7 oder 9 der Purinbase angreifen, so daß sich eine starke C-N Bindung ausbildet. Voraussetzung ist, das Radikal muß dicht am Akzeptor gebildet werden wegen seiner großen Reaktivität, oder es muß eine spezifische Transportform existieren. Als mögliche Konsequenz einer primären Arylierung der Nucleinsäurebase wird ein Zusammenbrechen der Kette durch Hydrolyse angenommen und ein eventueller Verlust der Base (73). Pullman brachte als Gegenargument, daß keine Beziehung zwischen Ionisierungsenergie und karzinogener Aktivität besteht (74). Diese Vorstellung erscheint

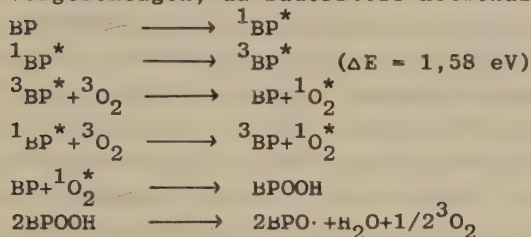
zu einfach. Es muß ebenfalls die Akzeptoraffinität des Partners berücksichtigt werden, weiter sind noch andere Energien wichtig, wie der Coulombfaktor und es können vor allem Energieänderungen auftreten durch Absorption an Oberflächen. Es muß jedoch bemerkt werden, daß nur in vitro-Untersuchungen vorliegen und kein Anhalt für eine mögliche Beteiligung an den realen Zuständen in der Zelle besteht.

Schließlich wurde noch von Nagata et al. die Bildung freier Radikale im Aktivierungsprozeß vorgeschlagen (75). Er konnte aufgrund von ESR-Signalen zeigen, daß ein freies Radikal auftritt, wenn BP an Gewebekulturen gebunden wird. Bei Anwesenheit von O_2 nimmt die Bildung zu. Auch bei Inkubation von BP mit Mikrosomenfraktionen konnten freie Radikale nachgewiesen werden, die als 6-phenoxy-Radikale identifiziert wurden (76) und Vorprodukte der Benzpyren-Quinone darstellen. Die gleichen Radikale konnten auch durch Bestrahlen von BP gewonnen werden, jedoch nur bei Wellenlängen, wenn 3.4-BP Absorptionsbanden aufweist. Verschiedene unpolare Lösungsmittel wurden verwendet und es wurde in allen, außer Dioxan, beim Bestrahlen freie Radikale entdeckt. Die Autoren führten dies auf die Instabilität des Radikals in Dioxan zurück, welches sofort in die reduzierte Form übergeht, indem es ein H-Atom vom Lösungsmittel aufnimmt; so konnte nur 5-hydroxy-3.4-BP isoliert werden. In CS_2 und Benzol ist die Lebensdauer der Radikale ungewöhnlich lang. Bei Anwesenheit von O_2 war die Radikalbildung in Benzol höher als in CS_2 . In polaren Lösungsmitteln wie Alkohol oder Aceton wurden keine ESR-Signale beobachtet, das Radikal ist wahrscheinlich zu instabil, zumal das Oxi-



tations-Reduktionspotential zwischen dem Radikal und 5-hydroxy-3.4-BP extrem klein ist.

Zur Bildung des Phenoxy-Radikals wurde folgender Weg vorgeschlagen, da Sauerstoff notwendig ist.



Diese Energiedifferenz genügt, um den Grundzustand des Sauerstoffs zu dem niedrigsten Singulettzustand anzuregen, der dann an der reaktivsten Stelle C_6 im 3.4-BP angreift. Es wird vorgeschlagen, daß die Aktivierung d.h. die Radikalbildung an C_6 erfolgt und dann erst an der K-Region die Bindung an Nucleinsäuren stattfindet. Bei einer Reihe von Stoffen wurden keine ESR-Signale gefunden, so bei Anthracen, 1,2 Benzanthracen, Dibenzphenanthren (77). Es scheint also nicht in allen Fällen eine Aktivierung durch Radikalbildung zu erfolgen, außerdem ist sie sehr stark vom Lösungsmittel abhängig. In polaren Lösungsmitteln, wie Alkohol oder Aceton konnte kein Signal beobachtet werden. Da in der Zelle ebenfalls ein polares Lösungsmittel, nämlich wässriges Medium vorliegt, trotzdem aber ESR-Signale auftraten, kann nur auf eine Stabilisierung dieser Radikale in vivo zurückgeführt werden. Über eine mögliche Transportform in den Zellkern ist jedoch nichts Näheres bekannt, obgleich sie von verschiedenen Autoren gefordert wurde.

Wir können feststellen, daß bei der chemischen Karzinogenese die Natur des "ultimate carcinogens" weitgehend unbekannt ist, in manchen Fällen scheinen es die Epoxide zu sein, während in anderen Radikale eine Rolle zu spielen scheinen. Es erscheint nicht verwunderlich, daß hierin kein einheitliches Schema

besteht, ist doch die Klasse der chemischen Karzino-
gene von sehr unterschiedlicher Struktur und Eigen-
schaft, so können folglich auch verschiedene Metabo-
lisierungswege eingeschlagen werden. Betrachten wir
einmal die mögliche Wirkungsweise dieser Stoffe in
der Zelle, die zur Krebsauslösung führt. Wie schon
früher berichtet wurde, scheint die DNA die Schlüs-
selposition zu sein. Durch eine chemische Bindung
könnte auf irgendeine Art und Weise eine Mutation auf-
treten, die aufgrund ihrer Stärke und Irreversibilität
bestehen bleibt und somit gegen "repair-Mechanismen"
resistent ist. Um ebenfalls den Verlust der Wachstums-
kontrolle, wie er bei der Karzinogenese auftritt, zu
erklären, müssen wir eine ganz spezifische Mutation
fordern. Dies kann durch eine bestimmte Trefferwahr-
scheinlichkeit der Moleküle zur DNA erfolgen, und
zwar an solchen Genbezirken, die in Zusammenhang mit
der Wachstumskontrolle stehen. Seit längerer Zeit
sind schon sogenannte Wachstums hemmhormone, die Cha-
lone, bekannt (78). Analysen ergaben, daß es sich um
Glycoproteine handelt. Jede Zelle im Verband produ-
ziert nun Chalone, die beim Diffundieren in die be-
nachbarten Zellen eine Hemmung auslösen, so können
sie beispielsweise als Repressoren der Gene wirken,
die zur Teilung benötigt werden. Dieses Gleichgewicht
ist bei Verletzungen usw. gestört. Es fehlen Repres-
soren, die benachbarten Zellen teilen sich, um die
entstandene Lücke wiederaufzufüllen. Nehmen wir ein-
mal an, die Zelle hat durch Mutation die Fähigkeit
verloren, auf Chalone zu reagieren, indem beispiels-
weise ihre spezifischen Rezeptoren ausgefallen sind,
so wäre die Folge eine unaufhaltsame Teilung der Zel-
len, die zum Krebs führt.

Auch das Kennzeichen maligner Zellen, in ihre Nachbar-
zellen zu infiltrieren, läßt sich mit diesem Schema
erklären.

Die betrachtete Krebsentstehung wäre somit resistent

gegen eine exogene Chalonsubstitution. Es sind jedoch Versuche bekannt geworden, in denen durch Chalonezufuhr ein Tumor gehemmt werden kann (79). Hier muß also eine Chalonverarmung vorgelegen haben, vielleicht durch kompetitive Hemmung am Rezeptor. Es sollte außerdem noch erwähnt werden, daß eine Vielzahl wachstumsfördernder Substanzen existieren (siehe Co-carcinogene).

Wie wir gesehen haben, kann auch eine chemische Bindung durch Photobestrahlung induziert werden, siehe 3.4-BP. Dies ist also ein weiterer Weg außer der Enzymbeteiligung zur Aktivierung der Karzinogene. Beim 3.4-BP liegt die Wellenlänge ungefähr bei 300 m μ , welches ~ 3 eV entspricht. Dies stimmt ganz gut mit der Beobachtung überein, daß der Strahlenkrebs schon bei 3 eV beginnt. Außerdem sind Karzinogene in jeder Zelle vorhanden und es existieren sicherlich eine ganze Reihe Stoffe, deren krebsauslösende Wirkung noch nicht bekannt ist. Bei höheren Strahlendosen können wir eine unspezifische Schädigung der gesamten Zelle annehmen, die auch direkt an der DNA angreifen kann.

Auf der anderen Seite darf aber nicht vergessen werden, daß bisher nur Korrelationen aufgedeckt worden sind, die nicht unbedingt für die Karzinogenese verantwortlich zu machen sind, sondern vielleicht nur Nebenefekte darstellen, die zu einem Hauptereignis parallel laufen. So passen folgende Befunde nicht in das Bild der chemischen Bindung. Lesko stellte 6-hydroxy-BP her und fand, daß es kovalent an DNA gebunden wird ohne weitere Aktivierung (80). Nagata injizierte dieses Metabolisierungsprodukt Mäusen und konnte keine signifikante onkogene Aktivität feststellen (81). Er verwies auf weitere geplante Experimente, um den Sachverhalt zu klären. Es kann natürlich der Fall sein, daß dieser Stoff bei Injektion abgebaut wird, bevor, er überhaupt den Angriffspunkt in der Zelle erreichen kann, während bei zelleigener Metabolisierung eine

stabilere Transportform gebildet wird.

Eine Reihe weiterer gegensätzlicher Ergebnisse lieferten Brookes und Heidelberger et al. Während ersterer eine Beziehung zwischen chemischer Bindung an DNA und Karzinogenität aufzeigte, fanden Goshman und Heidelberger keine solche allgemeine Korrelation. Sie stellten beispielsweise im Gegensatz zu Brookes fest, daß das nichtkarzinogene 1,2,3,4 Dibenzanthracen in größerem Ausmaß als das karzinogene 1,2,5,6 Isomer gebunden wird. Weiter wurde das starke 9,10 dimethylbenzanthracen ungefähr gleich an Mäuse-DNA gebunden, die entweder empfindlich oder resistent gegen diesen Kohlenwasserstoff sind (82). Dies sind alles Versuche, die im Gegensatz zueinander stehen und erst durch weitere Experimente kann eine Klärung erzielt werden.

d) Resonanztransfer

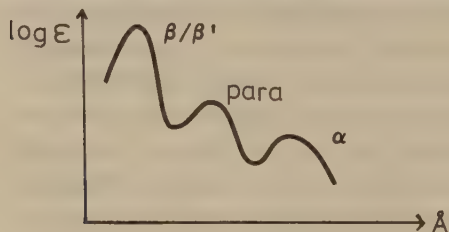
Einen ganz anderen Weg zur Erklärung der Karzinogenese wurde von Popp et al. eingeschlagen. Sie gingen von Anregungszuständen der Moleküle aus und berechneten die Energien der Singulett- und Triplettzustände von 3.4 und 1.2-BP, um eventuelle Unterschiede zwischen beiden Stoffen festzustellen, die eine Onkogenität bedingen könnten.

Von Singulettanregungen spricht man, wenn ein Elektron von einem besetzten in ein unbesetztes Orbital übergeht. Die Energieverhältnisse ändern sich auch in einem Magnetfeld nicht, da die Spins der Elektronen sich gegenseitig aufheben. Das Gegenteil liegt bei den Triplettzuständen vor, deren Elektronenspins nicht entgegengesetzt, sondern gleichgerichtet sind, sodaß ein magnetisches Moment resultiert. Energiemäßig liegen sie meist niedriger als die entsprechenden Singulettzustände und sind ohne Wechselwirkungen von außen verbotene Zustände, die sich nicht ohne weiteres anregen lassen.

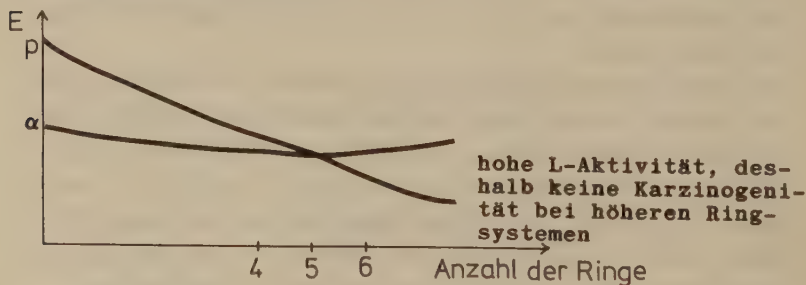
Als Resultat ihrer Rechnungen konnten sie zeigen, daß für beide Stoffe keine auffallenden Unterschiede existieren, außer daß bei 3.4-BP eine Quasientartung der α - und p-Zustände eintritt. Für 3.4-BP liegt er bei $\sim 1,6$ eV und für 1.2-BP ungefähr um das Doppelte höher (83). Weiterhin wurde die Mason'sche Beziehung zugrunde gelegt und als Energie des 2. Anregungszustandes verstanden. Für 3.4-BP liegt er tatsächlich im geforderten Bereich mit 3,29 eV, während er für 1.2-BP deutlich herausfällt. Es wird ein Resonanzphänomen gefordert mit einem Biorezeptor, der ähnliche Struktur besitzt und somit eine starke energetische Kopplung eingehen kann.

Weitere Beobachtungen zeigten, daß bei kanzerogenen polycyclischen Kohlenwasserstoffen p- und α -Zustand im Energiebereich der niedrigsten Triplett-niveaus

von Nukleinsäurebasen vorliegen (84). Durch einen Triplett-Triplett Resonanztransfer wird der Übergang von Photonen zwischen Nukleinbase und KH gefordert. Betrachten wir das Absorptionsspektrum von 3.4-BP:



Die Anregungsenergie der para-Zustände entspricht der Pullman'schen L-Region, deren Index größer als 5,66 β und daher im 3.4-BP inaktiv ist. Arcus et al. zeigten, daß kanzerogene Aktivität von der Ringzahl abhängt (85). Trägt man die Energie der Anregungszustände in Abhängigkeit von der Anzahl der Ringe auf, so erhalten wir folgendes Diagramm:



Bei 5 Ringen (z.B. BP) liegen die α - und p-Zustände energetisch so dicht beieinander, daß eine Vertauschung möglich ist. Es zeigt sich, daß die Resonanztheorie in der Lage ist, die Beobachtungen der Pullmans, die zu ihren K- und L-Regionen führten, nicht unbedingt durch Bildung chemischer Bindungen, sondern Photonenaustausch zu erklären.

Verschiedentlich ist schon berichtet worden, daß UV-

Photonen Informationen zwischen Zellen übertragen (86,87). Durch den geforderten Resonanztransfer kann jetzt eine Störung des Informationsaustausches stattfinden. Die zellspezifischen Signale sollen Photonen der Triplett-niveaus von Nukleinsäuren um 3,2 eV sein. Es kann die Entstehung des Strahlenkrebses sehr gut hiermit erklärt werden, der im Bereich von 3,2 und 4,4 eV erzeugt wird.

Betrachten wir 2 Moleküle und ihre WW aufeinander, so können wir sie durch folgende Gleichungen beschreiben:

$$\begin{aligned}\psi_A &\sim a_1\psi_A^1 + a_2\psi_A^2 \\ \psi_B &\sim b_1\psi_B^1 + b_2\psi_B^2\end{aligned}$$

Diese beiden Zustände können nun bevorzugt über einen Resonanztransfer wechselwirken.

Es wurde außerdem gezeigt, daß die Reichweite, Intensität und Selektivität dieser Signale ausreichen, um den zelleigenen Stoffwechsel zu steuern und die Information zwischen den Zellen zu gewährleisten (88). Eine irreversible Störung führt zur malignen Entartung und zum Verlust der Wachstumskontrolle. Einen großen Vorteil gegenüber anderen Theorien scheint sie bei Erklärung des "repair-Mechanismus" zu haben. Die Signale sind in der Lage, Fehler in der DNA Ablesung zu erkennen und genspezifisch reversibel zu machen. Diese Theorie zeigt, daß noch andere Möglichkeiten zur Deutung der Krebsentstehung existieren als die der chemischen Bindung und die vorliegenden Versuche und Beobachtungen lassen sich ebenfalls zwanglos erklären. Als eine wesentliche Stütze erscheint der tatsächliche Nachweis von Informationsphotonen, jedoch ist bisher über ihr Ausmaß bei der Beteiligung im Zellstoffwechsel nichts Sicheres bekannt.

1. Pullman, A., Pullman, B.: *Advances Cancer Res.* 3, 117 (1955)
2. Hoffmann, T.A.: *Theoretica Chimica Acta* 15, 393 (1969)
3. Abell, C.W., Heidelberger, C.: *Cancer Res.* 22, 931 (1962)
4. Brookes, P., Lawley, P.D.: *Nature* 202, 781 (1964)
5. Ryser, H.J.-P.: *New Engl. J. Med.* 285, 721 (1971)
6. Colburn, N.H., Boutwell, R.K.: *Cancer Res.* 28, 653 (1968)
7. Dingman, C.W., Sporn, M.B.: *Cancer Res.* 27, 938 (1967)
8. Brookes, P., Lawley, P.D.: *Nature, Lond.* 202, 781 (1964)
9. Kaye, A.M.: *Biochim. Biophys. Acta* 61, 615 (1962)
10. Boyland, E., Green, B.: *Biochem. J.* 87, 14 (1963)
11. Troll, W.: *Cancer Res.* 23, 841 (1963)
12. Watters, C., Cantero, A.: *Brit. J. Cancer* 21, 393 (1967)
- 12a. Daudel, P., Daudel, R.: *Chem. Carcinog. and Molec. Biol., Interscience Publ. N.Y.* (1964)
13. Boyland, E., Green, B.: *Brit. J. Cancer* 16, 347 (1962)
14. De Santis, F., Giglio, E., Liguori, A.M.: *Nature* 191, 900 (1961)
15. Ts'o P.O.P.: *J. Americ. Chem. Soc.* 85, 1289 (1963)
16. Pullman, B., Claverie, P., Caillet, J.: *Science* 147, 1305 (1965)
17. Nagata, C. Kodama, M., Tagashira, Y. Imamura, A.:
 - a) *Biopolymers* 4, 409 (1966)
 - b) *Gann* 57, 75 (1966)
18. Arcos, J.C., Arcos, M.: *Progr. Drug Res.* 4, 407 (1962)
19. Löwdin, P.O.: *Biopolymers* 1, 161 (1964)
20. Mulliken, R.S.: *J. Americ. Chem. Soc.* 74, 811 (1952)
21. Kier, L.B.: *Drug Research, Acad. Press*, 138 (1971)
22. Mason, R.: *Nature, Lond.* 181, 820 (1958)
23. Pullman, A.: *Biopolymers Suppl. Symp.* 1, 47 (1964)
24. Pullman, B.: *J. Cell Comp. Physiol.* 64, Suppl. 1, 91 (1964)
25. Hoffmann, T.A., Ladik, J.: *Acta Phys. Hung.* 13, 103 (1961)
26. Löwdin, P.O.: *Adv. Quantum Chem.* 2, 213 (1965)
27. Franke, R. Büchner, M.: *Archiv f. Geschwulstforsch.* 37, Symp. 1, 45 (1971)
28. Fukui, K., Yonezawa, T.: *J. Chem. Phys.* 20, 722 (1952)

29. Holik, L., Skala, S.A., Kuthan, G.: Coll. Czech. Chem. Comm. 33, 394 (1968)
30. Pullman, A., Pullman, B.: Nature 196, 228 (1962)
31. Mainster M.A., Memory, J.D.: Biochim. Biophys. Acta 148, 605 (1967)
32. Daudel, P. Daudel, R.: Cancer Res. 11, 439 (1960)
33. Cavalieri, E. Calvin, M.: Photochem. et Photobiol. 14, 641 (1971)
34. Ts'o P.O.P., Lesko, S.A., Umans, R.S.: Jerus. Symp. 1, 106 (1968)
35. Corbett, T.H.: Mol. Pharmacol. 6, 667 (1970)
36. Maher, V.M., Lesko, S.A., Straat, P.A., Ts'o P.O.P.: J. of Bacteriol. 108, Supp. 1, 202 (1971)
37. Brookes, P. Lawley, P.D.: Brit. Med. Bull. 20, 91 (1964)
38. Brookes, P., Lawley, P.D.: J. Cell. Comp. Supp. 1, 64, 111 (1964)
39. Duncan, M.E.: Int. J. Cancer 4, 813 (1969)
40. Grover, P.L., Forrester, J.A., Sims, P.: Biochem. Pharm. Vol. 20, 1297 (1971)
41. Kuroki, T.: Chem. Biol. Interactions 4, 389 (1971)
42. Grover, P.L., Sims, P., Huberman, E.: Proc. Nat. Acad. Sci. US. 68, 1098 (1971)
43. Marquardt, H., Kuroki, T. Huberman, E., Selkirk, J.K., Heidelberger, C., Grover, P.L., Sims, P.: Cancer Res. 32, 716 (1972)
44. Huberman, E.: Cancer Res. 32, 1391 (1972)
45. Grover, P.L.: Biochem. Pharm. 21, 2713 (1972)
46. Huberman, E. Selkirk, J.K.: Cancer Res. 31, 2161 (1971)
47. Miller, J.A., Miller, E.C.: Cancer Res. 23, 229 (1963)
48. Sims, P.: Biochem. J. 131, 405 (1973)
49. Gelboin, H.V., Kinoshita, N.: Fed. Proc. 31, 4, 1298 (1972)
50. Kinoshita, N., Gelboin, H.V.: Proc. Nat. Acad. Sci. US., 69, 824 (1972)
51. Kinoshita, N., Gelboin, H.V.: Cancer Res. 32, 1329 (1972)
52. Nebert, D.W., Gelboin, H.V.: J. Biol. Chem. 243, 6250 (1968)

53. Gelboin, H.V., Huberman, E., Sachs, L.: Proc. Nat. Acad. Sci. US. 64, 1188 (1969)
54. Kato, R., Takayanaghi, M.: Jap. J. Pharm. 16, 380 (1966)
55. Netter, K.J., Seidel, G.: J. Pharm. exp. Therap. 141, 61 (1964)
56. Berenblum, J.: Cancer Res. today, 42 (Oxford 1967)
57. Alvares, A.P., Schilling, G.R., Kunzman, R.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 30, 588 (1968)
58. Gurtoo, H.L., Campell, T.C., Webb, R.E., Plowman, K.M.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 31, 588 (1968)
59. Kenney, F.T., Wicks, W.D., Greenman, D.L.: J. cell. comp. Physiol. 66, 125 (1965)
60. Hamilton, T.H.: Science N.Y. 161, 649 (1968)
61. Madix, J.C., Bresnick, E.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 28, 445 (1967)
62. Duncan, M.E., Brookes, P., Dipple, A.: Int. J. Cancer 4, 813 (1969)
63. Brookes, P., Duncan, M.E.: Nature (Lond.) 243, 40 (1971)
64. Kuroki, T., Heidelberger, C.: Cancer Res. 31, 2116 (1971)
65. Connell, D.J., Riechens, L.A., Di Paolo, J.A.: J. Nat. Cancer Inst. 46, 183 (1971)
66. Dipple, A., Lawley, P.D., Brookes, P.: Europ. J. Cancer 4, 493 (1968)
67. Holtzman, J., Gilette, J.R., Milne, G.W.A.: J. Biol. Chem. 242, 4386 (1967)
68. Holtzman, J., Gilette, J.R., Milne, G.W.A.: J. Am. Chem. Soc. 89, 6341 (1967)
69. Dipple, A., Slade, T.A.: Europ. J. Cancer 6, 417 (1970)
70. Huberman, E., Kuroki, T.: Cancer Res. 32, 1391 (1972)
71. Wilk, M., Girke, W.: Jerus. Symp. on Quant. Chem. 1, 91 (1969)
72. Wilk, M., Bez, W., Rochlitz, J.: Tetrahedron 22, 2599 (1966)
73. Wilk, M., Girke, W.: Nat. Cancer Inst. 49, 1585 (1972)
74. Pullman, B.: Molec. Assoc. in Biol., Acad. Press, New York, 1 (1968)

75. Nagata,C., Kodama,M., Tagashira,Y., Imamura,A.:
Gann 57, 437 (1966)
76. Inomata,M., Nagata,C.: Proc.Jap.Cancer Assoc.
44 (1970)
77. Inomata,M., Nagata,C.: Gann 63,119 (1972)
78. Bullough,W.S.: Cancer Res.25,1683 (1965)
79. Süss,R., Kinzel,V., Scribner,J.D.: Krebs, Springer
Verlag 74 (1970)
80. Lesko,S.A., Hoffmann,H.D., Ts'o P.O.P., Maher,V.M.:
Progress Mol.Subcell.Biol.2,347 (1971)
- 81.Nagata,C.: Gann 62,419 (1971)
82. Pullman,A., Pullman,B.: Jerus.Symp.on Quant.Chem.
1,14 (1969)
83. Popp,F.A.: Z.Naturforsch. 276,850 (1972)
84. Popp,F.A.: Z.Naturforsch.28c, 165 (1973)
85. Arcos,J.C , Argus,M.F.: Advances Canc.Res.11,316
(1968)
86. Höfer,M.: Strahlentherapie 135,103 (1968)
87. Bild der Wissenschaft, Zeitschrift für Naturwissen-
schaft und Technik in unserer Zeit
6,2 (1973)
88. Popp,F.A., Schaumlöffel,E., Böhm,P., Herrmann,K.
Kramer,J.: Münchner Med.Wchschr.116, Nr.8,
381 (1974)

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit über die physikalisch-chemischen Grundlagen der Karzinogenese werden die intermolekularen Wechselwirkungen auf ihre Bedeutung bei der Krebsentstehung überprüft.

Langreichweitige Kräfte sind zu schwach und zu strukturspezifisch, um den entscheidenden Prozess zwischen kanzerogener Substanz und Biorezeptor auslösen oder steuern zu können. Ihre Bedeutung liegt in der Beeinflussung der Aufnahme der Stoffe in die Zelle.

Kurzreichweitige Kräfte sind strukturspezifisch, setzen aber eine enge Kopplung zwischen den Reaktionspartnern voraus. Es gibt eine Reihe kurzreichweitiger Wechselwirkungen, die untersucht worden sind und auch weiterhin in Verdacht stehen, an der Krebsentstehung maßgebend beteiligt zu sein: Multipol-Multipol-Wechselwirkungen, Dispersionskräfte, Förster-Transfer, Excitonen, Austauschkräfte, Dexter-Transfer, Charge-Transfer und schließlich die chemische Reaktion. Für jede dieser Wechselwirkungen gibt es grundsätzlich und phänomenologisch Stützen und Einwände, die in dieser Arbeit eingehend untersucht werden. Die Problematik wird durch den möglichen Metabolismus der primären kanzerogenen Substanzen erheblich erschwert, da bei den meisten Stoffen bisher nicht bekannt ist, welches "ultimate cancerogen" eigentlich entscheidend mit dem Biorezeptor wechselwirkt.

Unabhängig von diesen Überlegungen wurde an einer Hypothese mitgearbeitet, die als wesentlichen Wechselwirkungsgemechanismus den direkten Austausch von UV-Biophotonen sieht, die die Wachstumsregulation im Zellverband steuern. Auch darauf wird im Rahmen des gestellten Themas kurz eingegangen.

Ich danke Dozent Dr.F.A.Popp für die freundliche
Überlassung des Themas und die wertvolle Unter-
stützung.

Lebenslauf

Ich bin am 8.3.1950 in Haiger geboren.

Von 1960-68 besuchte ich das Johanneum Gymnasium in Herborn und begann ab Wintersemester 1968 in Marburg Chemie zu studieren. Nach der Zwischenprüfung 1972 wechselte ich zum Studium der Medizin über und legte 1972 die ärztliche Vorprüfung ab. Während des klinischen Studiums begann ich die Dissertation bei Doz.Dr.F.A.Popp im Radiologiezentrum, die sich speziell mit den physikalischen und chemischen Problemen der Karzinogenese beschäftigt.

1975 Ablegung des medizinischen Staatsexamens.

Meine akademischen Lehrer waren die folgenden Professoren und Dozenten:

Amon, Arndt, Braasch, Bock, Buchholz, Castenholz, Daume, Dehnicke, Dimroth, Dittrich, Dombrowski, Doss, Eißner, Eschenbacg, Exner, Friederich, Fischer, Fruhstorfer, Ganz, Golenhofen, Grundner, Haberich, Hamelmann, Hardewig, Hensel, Hess, Hildebrandt, Hort, Huch, Jacob, Joseph, Kaffarnik, Kalbfleisch, Karlson, Klaus, Klein, Kleinsasser, Koransky, Koecke, Kirmse, Kessel, Lange, Linneweh, Ludwig, Mannheim, Maroske, Martini, Massarat, Müller, Nöth, Nultsch, Petry, Portig, Popp, Pob, Pfeil, Riecken, Richter, Rodeck, Rohen, Schaumlöffel, Schiff, Schleyer, Schmitz-Moormann, Siegert, Scriba, Thoenes, Walcher, Wendt, Willenbockel, Witzel, Wehmeyer.

